Aus dem Institut für Arbeitsmedizin der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. med. H. Weichardt

Experimentelle Befunde bei CO-Vergiftungen an Ratten mit besonderer Berücksichtigung der Blut-Hirnschranke

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen

vorgelegt von
Antoni Schittek
aus Pogorzela

1969

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547603_0095

Aus dem Institut für Arbeitsmedizin der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. med. H. Weichardt

Experimentelle Befunde bei CO-Vergiftungen an Ratten mit besonderer Berücksichtigung der Blut-Hirnschranke

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen

vorgelegt von
Antoni Schittek
aus Pogorzela

1969

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan	:	Professor Dr. med. J. Hirschmann
1. Berichterstatter:		Professor Dr. med. H. Weichardt
2. Berichterstatter:		Privat-Dozent Dr. med. G. Schneider

Diese Arbeit entstand am Institut für Arbeitsmedizin der Universität Tübingen.

Die Überlassung des Themas verdanke ich Herrn Professor Dr. med. H. Weichardt.

Herrn Medizinaldirektor Dr. med. H. Zorn danke ich für die allseitige Unterstützung meiner Arbeit.

Ebenso gilt mein Dank Herrn Privat-Dozent Dr. med. G. Schneider für sein Interesse an meinen Problemen.

Die Arbeit selbst kam zustande dank der großzügigen Unterstützung der Fraunhofer Gesellschaft für Angewandte Forschung und ich fühle mich verpflichtet, dieser meinen Dank auszusprechen.

INHALTSVERZEICHNIS

1.0.0. Allgemeiner Teil

1.1.0. Einleitung S. 5

1.1.1. Bedeutung der Toxizität des Kohlenmonoxyds in der Gegenwart S. 5

1.1.2. Chemische und physikalische Eigenschaften des CO S. 7

1.1.3. Chronologische Übersicht über die Theorien der pathophysiologischen CO-Wirkung S. 8

1.1.4. Zur Definition und Klassifikation der CO-Intoxikation S. 11

1.2.0. Aufteilung der Aufgaben dieser Arbeit S. 12

1.2.1. Die Beeinflussung der Blut-Hirnschranke bei CO-Vergiftungen . Untersuchung zu dieser Frage anhand mikroskopischer Methoden S. 12

1.2.2. Vergleichende Untersuchung der Durchlässigkeit der Zellmembran mittels Anfärbbarkeit der Zellen bei CO-Intoxikation S. 16

1.2.3. Laboruntersuchungen des Blutes . Beeinflussung einzelner Blutgase, Enzyme und der pH-Werte bei verschiedenen CO-Expositionen S. 17

2.0.0. Spezieller Teil

2.1.0. Methodisches S. 18

2.1.1. Grundsätzliche Erwägung zur Wahl der Versuchstiere und der zu untersuchenden Organe S. 18

2.1.2. Methodik der Expositionen . Aufbau der Anlage S. 19

2.1.3. Methodik der angewandten Färbungen S. 25

2.1.4. Labormethoden S. 28

2.2.0. Ergebnisse S. 30

2.2.1. Auswertung der Färbungen S. 30

2.2.2. Spezielle Untersuchungen zur Prüfung der Blut-Hirnschranke S. 36

2.2.3. Tabellen der durchgeführten Blutuntersuchungen S. 37

3.0.0. Diskussion

3.1.0. Vergleich der allgemeinen anatomisch-pathologischen Befunde mit Literaturangaben S. 41

3.2.0. Vergleich dieser anatomisch-pathologischen Befunde unter besonderer Beachtung der Blut-Hirnschranke S. 43

3.3.0. Zur Kritik der Methodik S. 45

3.4.0. Kritische Wertung der Supravitalfärbung mit Neutral-Rot, Stellungnahme zu den Ergebnissen von Shtabskij S. 49

3.5.0. Theoretische Überlegungen zur CO-Toxikologie S. 50

4.0.0. Zusammenfassung S. 52

5.0.0. Literaturverzeichnis S. 53

1.0.0. Allgemeiner Teil

1.1.0. EINLEITUNG

1.1.1. Bedeutung der Toxizität des Kohlenmonoxyds in der Gegenwart

Die Toxikologie der akuten Vergiftung durch hohe CO-Konzentrationen wird in der Zukunft immer weniger Bedeutung haben, was der intensiven wissenschaftlichen Forschung und dem technischen Fortschritt der letzten Jahrzehnte zu verdanken ist. Die Gefährlichkeit des CO darf man jedoch nicht daran messen, daß mancherorts Lebewesen höheren CO-Konzentrationen exponiert sind. Vielmehr liegt die Gefahr des CO heute in einer Zunahme von Vorgängen mit CO-Bildung und dem nahezu ubiquitären Auftreten des CO. Dies gibt Veranlassung, das "CO-Problem" nicht zu bagatellisieren. Denn gerade nicht die individuellen Wirkungen und unmittelbaren Folgen der akuten CO-Intoxikation sind es, die dem Arzt - ganz allgemein gesehen - Schwierigkeiten bereiten, sondern die Prophylaxe, Diagnostik, Therapie und Begutachtung von chronischen, d.h. häufigen, langdauernden, gleichsam "unterschwelligen" CO-Vergiftungen.

Die Zeiten der sehr häufigen Haushaltsvergiftungen durch CO scheinen zumindest in Ländern mit hohem Lebensstandard endgültig vorbei zu sein. Die Fernwärmeversorgung, die Umstellung der Küchenaggregate auf Strom, Herabsetzung des CO-Anteils im Stadtgas, Odorisierung haben die CO-Haushaltsunfälle zu immer selteneren Ereignissen werden lassen. Prognostisch waren

diese Vergiftungen nicht sehr günstig, da sie häufig schleichend eintraten, im Gegensatz zu industriellen, welche meist durch hohe CO-Konzentrationen plötzlich verursacht, akute Symptome auslösten und schnell zu Hilfeleistung führten, NAVRATIL (43) FRANCOIS (45). Als industrielle Giftquellen sind Hochöfenbetriebe, Gaskokereien, benzinverarbeitende Industrie, Kunststoff- und CO_2- Synthese und die Metallschweißprozesse zu erwähnen. Heutzutage sind diese CO-gefährdeten Arbeitsplätze unter werksärztlicher Aufsicht auch prophylaktisch gut abgesichert. Gesundheitliche Gefährdung durch Kohlenmonoxyd findet sich immer dort, wo unvollkommene Verbrennung von Kohle oder Kohleverbindungen stattfindet, so z.B. in den Verbrennungsmotoren des Otto- und Dieseltyps. Deswegen können in schlecht ventilierten Straßenschluchten der Großstädte, in Tunnels und Garagen, außerhalb des Kraftwagens und in seinem Inneren, Kohlenmonoxydkonzentrationen auftreten, die Personen, die im dichten Verkehr stehen, gefährden. Zur Illustration dieses Sachverhaltes kann die Feststellung dienen, daß eine mehrstündige Kreuzfahrt durch München zu einem CO-Hb-Wert von 21 % führt, EFFENBERGER (6). Lange genug wurde diese Tatsache gar nicht oder zu wenig beachtet, erst seit wenigen Jahren bemüht sich die Autoindustrie um Entgiftung der Autoabgase.

Schließlich muß auch in der Vielzahl der CO-belastenden Faktoren das Zigarettenrauchen erwähnt werden, eine Giftquelle, deren Ausschaltung fast schon außerhalb der legitimen prophylaktischen Maßnahmen liegt, die der Gesetzgeber anwenden kann, um die Gesundheit der "Gesetzempfänger" zu schützen.

Im heutigen Leben haben wir eigentlich immer mehr mit sehr geringen CO-Konzentrationen in der Atemluft zu tun, mit Bruchteilen eines Prozentes, welche man am übersichtlichsten in "ppm"-Einheiten ausdrücken kann. Viele Experten bemühen sich seit langem festzustellen, wieviel ppm in einer bestimmten Zeitdauer, oder als permanenter Atemluftbestandteil, als völlig ungefährlich gelten kann. (LIMITES TOLERANCE IGU, 1964). Die Auffassungen darüber schwanken auch in Gestalt der von Land zu Land verschiedenen sog. MAK-Werte, d.h. Maximale Arbeitsplatz-Konzentration. In der BRD und in den USA beträgt er 50 ppm, in der CSSR 18, in der UdSSR 10 ppm.

1.1.2. Chemische und physikalische Eigenschaften des CO

Das Kohlenmonoxyd ist ein farb- und geruchloses Gas, in manchen Lehrbüchern ist jedoch angegeben, daß es in starken Konzentrationen nach Knoblauch riecht. Die Verbrennung wird nicht unterhalten, selbst aber ist das Gas brennbar. Es ist entsprechend seinem molekularen Gewicht (M = 28) etwas leichter als Luft (M = 29). Nach der Elektronenformel ist das CO mit dem N_2 isoster :C:::0: und :N:::N: .

CO verbrennt an der Luft mit charakteristischer bläulicher Flamme und starker Wärmeentwicklung zu CO_2 :

$$CO + 1/2\ O_2 = CO_2 + 67{,}7\ Kcal$$

Wegen dieses starken Bestrebens zur Vereinigung mit Sauerstoff dient es in der Technik als Reduktionsmittel zur Reduktion von Metalloxyden zu Metallen.

Außer O_2 vereinigt sich CO in der Hitze auch mit vielen anderen Nichtmetallen z.B. mit Wasserstoff, Schwefel, Chlor. Von großtechnischer Bedeutung ist die Umsetzung mit Wasserstoff. Leitet man ein Gemisch von CO und H_2 über geeignete Katalysatoren, so entstehen je nach Versuchsbedingungen ganz verschiedene Hydrierungsprodukte, HOLLEMAN - WIBERG (11).

1.1.3. Chronologische Übersicht über die Theorien der pathophysiologischen CO-Wirkung

Die Toxikologie des Kohlenmonoxyds im engeren Sinne, d.h. die wissenschaftliche Toxikologie ist jetzt ungefähr 100 Jahre alt. Die Toxikologie des CO im weiteren Sinne ist - Zit.: "die älteste, häufigste und verbreitetste aller menschlichen Vergiftungen. Sie hat seit dem Augenblick, als sich in grauer Vorzeit Menschen das Feuer als wichtigste Energie- und zugleich aber auch Kohlenmonoxydquelle erschlossen, unzählige Opfer gefordert." (PETRY, 44).

Mit der frühen Phase der CO-Forschung sind Namen von Claude - Bernard, Hoppe - Seyler und Haldane sehr eng verbunden. Von dem ersten stammt die klassische Erstickungstherorie (1857). Haldane glaubte den Beweis für diese Theorie im folgenden Versuch zu sehen: Eine Maus wurde im geschlossenen Käfig unter 2 Atü Sauerstoff und 1 Atü CO - Gemisch gesetzt. Der Blutfarbstoff wurde durch das CO für den O_2-Transport blockiert, das Tier lebte aber weiter; durch die physikalisch gelöste Sauerstoffmenge konnte der O_2-Transport aufrechterhalten bleiben. Das Tier starb natürlich sofort,

nachdem man den Druck herabgesetzt hatte. Man hat diesen Versuch noch modifiziert, mit Lebewesen, die keinen roten Blutfarbstoff besitzen, wie Insekten, die man wochenlang in Atmosphäre aus reinem CO gehalten hatte. Diese Versuche sind sehr überzeugend und man müßte sich wundern, daß es noch Unklarheiten darüber gab, wie das CO nun eigentlich wirkte, und daß eine andere Theorie überhaupt diskutiert werden konnte. Vom rein chemischen Gesichtspunkt ist eine andere Auffassung, als die physikalische, nicht statthaft, denn das CO ist sehr schwer wasserlöslich und somit reaktionsunfähig im chemischen Sinne, "corpora non agunt nisi soluta"; die Wasserlöslichkeit des CO beträgt bei 0° C 0,03537 ml, bei 10° C 0,02816 und bei 20° C 0,02316 ml norm. CO.

In den 20-er Jahren d.J. machte O. Warburg seine wichtige Entdeckung der Fe-haltigen Atmungsenzyme mit Hilfe des Kohlenmonoxyds. Damit sind die wissenschaftlich begründeten Zweifel von der alleinigen hypoxischen Wirkung dieses Gases für eine Diskussion erst reif geworden. Warburg hat entdeckt, daß das CO durch die Fe-haltigen Enzyme gebunden wird. Die Affinität des CO für Cytochromoxydase ist niedrig und beträgt etwa 1/10 von jener für O_2. PRAVDIN (22) vermutete, was bisher nicht bestätigt werden konnte, daß es möglicherweise Enzyme gibt mit stärkerer Affinität für CO als für O_2. Petry fand lediglich eine beachtliche, wenn auch schwächere als für O_2, Affinität des CO für Hämochrom, Hämatin und Blutkatalase (QUANDT, 24). Obwohl relativ hohe CO-Drucke nötig sind zur Herstellung der CO-Bindung an die Enzyme, könnten bei sehr kleinen PO_2 im Gewebe geringere CO-Drucke schon eine Wirkung haben (36, S.45)

Es hat schon vor Warburg bei CO-Vergiftungen Beobachtungen gegeben, welche durch Hypoxie nicht ganz zu erklären waren, man hatte sie jedoch auf falsche oder ungenaue Angaben zurückgeführt. Seit Warburgs Entdeckung konnte man sich vorstellen, daß das CO einen intracellulären Angriffspunkt haben könnte. Mit dieser Annahme wären einige Schwierigkeiten gelöst, z.B. die Erklärung rein chronischer Vergiftungen mit sehr geringen CO-Mengen, die keine nennenswerte Behinderung des O_2- Transportes verursachen. Die Existenz solcher chronischer Vergiftungen ist nach Pfreder (36, S. 85) "so lange ein Glaubensbekenntnis, so lange man keine direkten histo-toxischen Wirkungen des CO nachweist". Auch andere Tatsachen lassen einen "spezifischen" Effekt vermuten, so der erhöhte Blutdruck, die Glykosämie, welche bei reiner Hypoxie z.B. durch Stickstoff, nicht zu finden ist (MOESCHLIN, 46). Seit den 30-er Jahren wird diese Frage sehr heftig diskutiert und ist bis jetzt nicht eindeutig geklärt. Die russischen Autoren PRAVDIN (22), SHABALIN (32), SHTABSKIJ (33) sind der Auffassung, daß es eine spezifische CO-Wirkung gibt, die schwedische "CO-Schule" lehnt seit ca. 1957 eine Wirkung dieser Art ab, wobei man bemerken muß, daß die Schweden auf diesem Gebiet sehr viel im Zusammenhang mit der sog. Generatorgas-Ära der 40er Jahre geforscht haben. PETRY (44) läßt diese Frage in seinem Buch 1953 noch offen. SHTABSKIJ behauptet 1963, daß es eine spezifisch-toxische Wirkung des CO gibt (33). LENGGENHAGER (16) kommt auf Grund vieler Versuche und theoretischer Überlegungen zum Schluß, daß eine solche CO-Wirkung nicht existiert. Von den französischen Autoren stellten sich CLAUDE (4) 1964, und

MOSINGER mit DE BISSCHOP (21), ebenfalls 1964, auf die Seite der für eine spezifisch-toxische Wirkung plädierenden Wissenschaftler. "Die Zahl derjenigen, die die Existenz einer echten chronischen CO-Vergiftung ablehnen, scheint zu überwiegen" - wurde bei dem Internationalen Symposium 1965 in Stuttgart (36) konstatiert. Der offensichtlich noch vorhandene Widerspruch fordert weitere Untersuchungen, wozu diese Arbeit ebenfalls einen Beitrag leisten soll.

1.1.4. Zur Definition und Klassifikation der CO-Intoxikation

Viel Verwirrung in der Forschung der CO-Intoxikation entstand durch unterschiedliche Benennung des Vergiftungsvorganges und des Intoxikationsbildes. Als abgesondertes Thema wurde diese Problematik bei dem internationalen Symposium 1965 in Stuttgart behandelt (36). Im folgenden wird gemäß der Richtlinien dieses Symposium der dort empfohlene Sprachgebrauch angewandt werden, s. Tab. 1.

lle 1 *Zorn: L[illegible]hlung für die* **Klassifikation der CO-Vergiftung**

sition	Krankheitsbild – Symptomatologie	Elimination und Spatschaden
dauernde Exposition her CO-Konzentration Luft ca. > 1 Vol.%) efährer CO-Hb-Wert chen 50-80%)*	**Akute Kohlenmonoxidvergiftung** Klinisch handelt es sich um das Bild einer akuten Hypoxie. Bei sehr hoher CO-Konzentration kommt es sofort zum Kollaps. Der Tod kann innerhalb von Minuten eintreten. In anderen Fällen zeigen sich zuerst Gliederschwere, Ataxie, Schwindel, Sehstörungen. Die Hautfarbe ist gut, keine Blässe, keine Cyanose, nur manchmal kirschrote Blutfarbe durchscheinend. Nach Atemfrequenzanstieg schnelles Auftreten einer Atemlähmung. Das Kreislaufversagen mit schnellem, schwachem Puls setzt erst nach der Atemstörung ein.	**Spätschaden nach akuter CO-Vergiftung** Nach Entfernung aus dem toxischen Milieu erfolgt die CO-Ausscheidung vollständig in kurzer Zeit: Es kommt relativ selten zu einem Spätschaden! Wenn er beobachtet wird, ist er meist Folge einer Schädigung am Gehirn oder Myokard während der Anoxie.
mittlerende Exposition ittlerer CO-Konzentration bis 1 Vol.-% CO/Luft) efährer CO-Hb-Wert)%)*	**Subakute Kohlenoxidvergiftung** Klinisch keine charakteristisch abgegrenzten Merkmale; das Beschwerdebild variiert mit dem Grad der Exposition. Sehr häufig entwickeln sich zunehmend starke Kopfschmerzen, schnelles Auftreten einer Erschöpfung. Erhöhte Unfallgefährdung. Kollapsgefahr bei stärkerer körperlicher Belastung.	**Spätschaden nach subakuter CO-Vergiftung** Meist vollständige CO-Ausscheidung nach längerem Zeitraum. Psycho-intellektuelle Abbauerscheinungen.
tinuierliche Exposition iederen CO-Konzentrationen 2 bis 0,2 Vol.-% CO/Luft) gefährer CO-Hb-Wert 5%)*	**Subakute Kohlenmonoxidvergiftung** Die Beschwerden variieren stark mit dem Grad der Exposition. Im ganzen wird diese Art der Vergiftung leicht unterschätzt. Gliederschwere, oft aber keinerlei Anzeichen der langsam zunehmenden Vergiftung. Hautfarbe und Hauttemperatur sind gewöhnlich normal und sinken erst mit zunehmender Schwere der Vergiftung. Schneller, schwacher Puls, niedriger Blutdruck, normale bis leicht gesteigerte Atemfrequenz bei Verminderung des Atemvolumens. Extreme Neigung zu Kollaps bei leichtester körperlicher Belastung.	**Spätschaden nach subakuter CO-Vergiftung** Vollständige CO-Ausscheidung während eines deutlich verlängerten Zeitraums. Es kommt häufiger zu einem Spätschaden, dessen Symptomatik sehr verschiedenartig ist.
ganhaltende Exposition sehr niederen CO-Konzentra- en (< 0,02 Vol.-% CO/Luft) gefährer CO-Hb-Wert 5% CO-Hb)*	**Chronische Kohlenoxidvergiftung** Keine unmittelbar sofort auftretenden Kennzeichen und Beschwerden.	**Spätschaden bei chronischer CO-Vergiftung** Syndrom einer Adynamie, Kopfschmerzen, Schlafstörungen, Schwindel, abnorme Reizbarkeit, Gedächtnisschwäche und Ermüdung, vasomotorische Störungen, Zittern, Dyspnoe, Präcordialschmerz, Verdauungsstörungen, Gewichtsverlust, Harndrang, Impotenz, Durst, Hyperhidrosis, Alkoholintoleranz, Polyneuritis und Fieber.

1.2.0. AUFTEILUNG DER AUFGABEN DIESER ARBEIT

1.2.1. Die Beeinflussung der Blut-Hirnschranke bei CO-Vergiftungen. Untersuchung zu dieser Frage anhand mikroskopischer Methoden.

Seit langem weiß man, daß nach CO-Vergiftungen Permeabilitätsstörungen der Blut-Hirnschranke auftreten können. Als greifbarer Anhaltspunkt galt dafür der Nachweis von sonst nicht schrankenfähigen Globulinen im Liquor, Veränderungen der Mastix- und Goldsolkurven (EHRHARDT, 7, PETRY, 44). Auch die bei CO-Vergiftungen nachgewiesenen Markscheidenläsion wird auf die Störung der Blut-Hirnschranke bezogen (LEEL-ÖSSY und PAP, 12).
In dieser Arbeit wurde nun versucht, diese Schrankenstörung auf eine andere Weise zu untersuchen. Die Funktion der Blut-Hirnschranke wurde mittels Vitalfärbung bei chronisch und akut CO- vergifteten Ratten geprüft. Diese histologisch-mikroskopische Methode wurde angewandt, da sie eine Schädigung objektiver darstellt als andere Methoden. Eine dieser anderen Methoden, die in der Arbeitsmedizin und Toxikologie oft, freilich mit wechselndem Erfolg angewendet wird, ist die Beobachtung der bedingten Retlexe und anderer psycho-intelektueller Vorgänge während, bzw. nach Einwirkung des zu prüfenden Stoffes. Eigene Versuche der Beeinflussung bedingter Reflexe unter CO-Exposition bei Ratten hatten, ebenso wie bei MALORNY (19) kein hochsignifikantes Ergebnis. Auch Versuche von WIELAND an Rhesus-Affen (38) und von SCHULTE (31) am Menschen waren nicht völlig eindeutig in ihrem Aussagewert. SHABALIN (32) kam allerdings bei seinen Versuchen am Menschen

zu Ergebnissen, die eindeutig sind.

Das Ziel dieser Arbeit war nun festzustellen, welche CO-Konzentrationen und bei welcher Dauer der Exposition zu einer Schädigung an der Blut-Hirnschranke führen. Dazu wurde die Vital färbung mit dem Geigy - Blau 536 med. (=Evansblue), einem Farbstoff, welcher zum Nachweis schon geringer Störungen der Blut-Hirnschranke sich sehr gut eignet (LEONHARDT, 17), verwendet. Die Absicht war, diesen vital gespritzten Farbstoff in histologischen Schnitten des Gehirns nachzuweisen, wobei er in den Gehirnschnitten der CO-exponierten Ratten, infolge der Schrankenstörung, vermehrt auftreten mußte. Die Art der Exposition - ob kurzfristige und stärkere oder langfristige und schwächere, sollte dabei natürlich berücksichtigt werden, wie auch die Menge des verwendeten Farbstoffs pro Gewichtseinheit des Versuchstieres.

Es muß erwähnt werden, daß über die Natur der sog. "Blut-Hirnschranke" noch immer Unklarheit besteht. Nach H. BAUER (3) läßt sich zur Zeit über die Vorstellungen über die Bluthirnschranke folgendes aussagen, Zit.:
"Die teleologische Betrachtungsweise, die eine oder mehrere Schutzstrukturen zur Aufrechterhaltung des milieu interne im ZNS postuliert, wird durch eine kausal-dynamische ersetzt, die eine Aufklärung der Grenzflächenphänomene auf Grund der Wechselwirkungen zwischen Blut, Grenzfläche und Hirnparenchym sucht. Daß die morphologische und materielle Beschaffenheit der Grenzflächen eine wesentliche Determinante dieses Systems darstellt, wird nicht bezweifelt. (.....) Daß hierbei auch in morphologischer Hinsicht noch viele Fragen offen stehen, muß hervorgehoben werden. So fehlt z.B. in

dem von DE ROBERTIS und GERSCHENFELD entworfenen Schema über die morphologischen Beziehungen zwischen Blutbahn, Capillarendothel, Astrocyten, Neuronen und Liquoroberfläche eine Einordnung der Oligodendrocyten."

Zur Geschichte der Blut-Hirnschranke sei noch folgendes erwähnt:
Die erste diesbezügliche Beobachtung stammt von EHRLICH, aus dem Jahre 1885, als er entdeckt hat, daß saure Anilinfarbstoffe den ganzen Körper mit Ausnahme des Gehirns anfärben. Die Blut-Hirnschranke ist als Begriff seit 1900 bekannt, von LEWANDOWSKY geprägt. GOLDMANN stellte 1913 fest, daß das Trypanblau, i.v. gespritzt nicht ins Gehirn eintritt, wohl aber wenn man es in den Liquorraum einspritzt. Morphologische Studien auf der Suche nach einem sichtbaren Substrat der "Schranke" ergaben verschiedene Resultate: einmal wurden besondere Capillarendothelien postuliert, dann wieder eine PAS-anfärbbare Grundsubstanz (HESS), oder perivaskuläre Astrocytenfortsätze (s.o.)
In den letzten Jahren setzt sich zunehmend die Auffassung durch, daß eine morphologische Besonderheit des Gehirns nicht vorliegt, sondern ein komplexes System physiko-chemischer Mechanismen dieses Verhalten verursacht. Die früher getrennten Begriffe der Blut-Hirnschranke, Blut-Liquorschranke und Hirn-Liquor-Schranke sind nach QUADBECK, HELMCHEN, SELVERSTONE, DOBBING nicht unbedingt voneinander zu trennen (zit. nach H. BAUER, 3).

Diese Arbeit sollte primär keine Erforschung der Blut-Hirnschrankenproblematik sein. Primär kam es darauf an, eine weitere Forschungsmethode der CO-Arbeitstoxikologie zu entwickeln, bei der das Verhalten der Blut-Hirnschranke gleichsam als Indikator der Giftschädlichkeit herangezogen wird, in diesem speziellen Fall, des Kohlenmonoxyds. Daher wurde vor allem das gegebene, evidente Verhalten des gesunden Hirngewebes, Farbstoffe nicht

aufzunehmen, zur Grundlage des Experiments herangezogen; die Grundlagen dieses Verhaltens selbst sollten nicht berührt werden.

Die vorliegende Arbeit brachte auch nicht zu entscheiden, ob die Blut-Hirn-Barriere, in den verschiedenen ZNS-Gebieten verschieden stark ausgeprägt, einen aktiven Schutzmechanismus darstellt - oder nicht. Fest steht, daß es verschieden "gute" Blut-Hirnschranken gibt (z.B. bei Neugeborenen ist sie physiologischerweise noch nicht vorhanden, auch im Erwachsenenalter bei Hirntumoren und anderen pathologischen Zuständen im Bereich des ZNS) - und daß man die "schlechten" selektiv beobachten kann. Bei der vorliegenden Arbeit ging es darum, eine Schädigung der Blut-Hirnschranke mit den CO-Expositionen herbeizuführen und dann mittels der Vitalfärbung nachzuweisen.

Die durch CO verursachte Hypoxydose setzt im Gehirn Schäden, die topographisch in den gleichen Gebieten liegen, wo auch der Kernikterus auftritt. Diese Tatsache wurde am Beispiel des Pallidum gesehen - und auf eine Funktionsstörung der Blut-Hirnschranke zurückgeführt. In dieser Richtung weitergehende Untersuchungen der Permeabilität der Schranke in Abhängigkeit von Sauerstoffmangel wurden von BECKER und QUADBECK (zit. nach H. BAUER, 3) durchgeführt.

1.2.2. Vergleichende Untersuchung der Durchlässigkeit der Zellmembran mittels Anfärbbarkeit der Zellen bei CO-Intoxikation

Der Anstoß zu diesem Teil der Arbeit kam wesentlich durch einige neuere Publikationen aus der Sowjetunion (SHTABSKIJ, 33, 34). Sie wurden hier nachgeprüft und unter dem Blickwinkel der spezifisch-toxischen Theorie der CO-Wirkung ergänzt.

Shtabskij und vor ihm schon Grebenskaja hatten festgestellt, daß die CO-Einwirkung zur Änderung der Farbstoffverteilung in der Zelle führt. Dieses Problem der Farbstoffverteilung ist schon seit langem bekannt (GICKLHORN, 8, NASSONOV, 35). Nassonov stellte diese Verteilungsänderung als einen aktiven, vom Vitalitätszustand der Zelle abhängigen Prozeß dar, Zit.: "Ein ganz bestimmter Kolloidzustand, der bei vereinzelten Kerntypen schon normalerweise vorliegt, bei anderen erst durch die Reizung der Zelle wie Asphyxie (Nassonov 1930) oder Hypotonie (Kamnev 1934), hervorgerufen wird, führt zu reversiblen Gelbildungen, also zu einer Verdichtung, die erst die Möglichkeit einer stärkeren Farbstoffadsorption schaffen soll" (STOCKINGER, 35, S. 52). Die Nassonov-Schule hat also die diffuse Farbstoffverteilung als ein Schädigungssymptom der Zelle angesehen; dieser Gedanke führte schließlich auch zu Farbstoffuntersuchungen an Geschwulstzellen, die als weiterer Beweis für den Farbstoffnachweis geschädigter Zellen sprachen. Shtabskij hat von Grebenskaja diese Auffassung übernommen und eigene Versuche mit Neutral-Rot an Mäusen gemacht. Er hat die Organe immer supravital gefärbt. Entsprechend dieser Arbeit wurde hier versucht, die diffus-granulären Verteilungen bei

verschiedenen CO-Intoxikationsstufen zu untersuchen. Die Aussagefähigkeit dieser Methode für das Problem der Blut-Hirnschranke ist im Abschnitt 2.2.2. ausführlich dargestellt. Die pathophysiologische Deutung dieser Diffusfärbung als Ausdruck der Zellschädigung wird im Schrifttum nicht mehr allgemein anerkannt, da es sich wahrscheinlich nicht um eine gleichmäßige Anfärbung des Protoplasma, sondern um äußerst kleine Farbtröpfchen handelt, deren Größe unter der der Auflösungsmöglichkeit der Lichtmikroskope liegt (STOCKINGER, 35). Schon lange vor Stockinger hatte Gicklhorn (8) erhebliche Zweifel, daß die diffuse Färbung als Ausdruck einer Zellschädigung aufzufassen ist. Trotzdem muß die unterschiedliche supravitale Anfärbbarkeit als eine Veränderung im Zellgeschehen angesehen werden. Deswegen war auf Grund der russischen Arbeiten und der Arbeit von VAN LESSEN und Mitarb. (18) eine Wiederholung der Farbtestuntersuchung bei entsprechend differenzierter Wertung angezeigt. Diese erfolgte mit zwei Farbstoffen und wurde vital und supravital durchgeführt, um ein möglichst umfassendes Bild des Farbstoffmechanismus und der möglichen Schädigungsvorgänge zu erhalten.

1.2.3. Laboruntersuchungen des Blutes. Beeinflussung einzelner Blutgase, Enzyme und der pH-Werte bei verschiedenen CO-Expositionen

Obwohl sich die Arbeit eigentlich auf histologischem Gebiet befindet, waren die Laboruntersuchungen eine notwendige Ergänzung, um die Folgen der

Expositionen gleichzeitig aus einer anderen Ebene zu beobachten. Es konnten nicht beliebig viele "Parameter" des Blutes bestimmt werden, sondern es war notwendig, sich auf einige aus der Literatur als wichtig erscheinende zu konzentrieren. Nicht untersucht wurden u.a. die SGOT, SGPT, LDH-Werte, die den Kliniker wohl interessieren, die aber bei den Rattenexperimenten eine zu große Streuung infolge extremer Hämolyseneigung des Blutes zeigen (SCHMIDT, 29). Zum anderen Teil stand wenig Blut zur Verfügung, und schließlich war die Behandlung der Tiere mit einem Vitalfarbstoff nicht immer mit spektrophotometrischen Bestimmungen in Einklang zu bringen.

2.0.0. Spezieller Teil

2.1.0. METHODISCHES

2.1.1. Grundsätzliche Erwägung zur Wahl der Versuchstiere und der zu untersuchenden Organe

Die Entscheidung, Ratten als Versuchstiere zu verwenden, war eigentlich eine Wahl unter wenigen: Mäuse, Goldhamster, Meerschweinchen, Ratten kamen in Frage, denn es sollten möglichst kleine Säuger mit bekannten Eigenschaften des Blutfarbstoffes sein. Die Ratten haben sich als die relativ

günstigster Tiere erwiesen, da sie gegen Krankheiten weniger empfindlich sind, als die anderen, was bei längeren Versuchen durchaus zu berücksichtigen ist. Ferner sind sie billig und haben wie auch Meerschweinchen eine für die CO-Exposition günstige CO-Hb-Dissoziationskurve, die nach Größe und Form der menschlichen ähnlich ist (MALORNY, 19, SCHMIDT-NEILSEN and LARIMER, 30). Auch vom histologischen Gesichtspunkt sind die Ratten sehr gut bekannt. Es wurde also mit weißen Ratten des Stammes SIV-50 gearbeitet.

Für histologische Untersuchungen wurde stets das Gehirn, die Nieren und die Leber entnommen. Die Beschränkung auf die drei Organe ergab sich aus der funktionellen Fragestellung. Es sollte keine histopathologische Untersuchung sensu stricto sein, sondern eine Beurteilung des Schädigungsvorganges anhand der Farbstoffanwesenheit oder seines Fehlens, d.h. der Zelldiffusionsbedingungen, seiner Verteilung in den Zellen und der Form seiner Speicherung.

2.1.2. Methodik der Expositionen. Aufbau der Anlage.

Hauptsächlich kam es bei der Untersuchung auf die prolongierte geringgradige CO-Exposition an. Diese Art der chronischen Vergiftung hat unter den CO-Forschern schon immer zu Kontroversen geführt - und zu Versuchen mit immer längeren Expositionszeiten. Die Verfechter der spezifisch-toxischen Theorie (s. 1.1.2.) wollten auch eine kumulative Wirkung beweisen, weil sie sich aus der Theorie von selbst ergab. Daher die Tendenz zu langen Expositionen. Die längste mir bekannte ist von MOSINGER (21) publiziert, sie dauerte

bis zu 2 Jahren. Da bei derartigen Zeiträumen bei den Ratten die Altersveränderungen schwer von echten pathologischen Vorgängen zu trennen sind, wurden unsere Angiftungen auf längstens 10 Wochen beschränkt und eine Konzentration ab 200 ppm CO angewandt. Die Intoxikationen fanden abwechselnd tags und nachts statt; bei den kürzeren und stärkeren nur tagsüber. Die angegebenen CO-Konzentrationen konnten sehr genau eingehalten werden und differierten maximal nur um ± 20 ppm. Die Einhaltung dieser Genauigkeit ist mit Hilfe eines speziell dafür eingerichteten Infrarot-Gas-Analysators ermöglicht worden. Am Anfang der Expositionen bestanden Schwierigkeiten mit der genauen Abdichtung der Anlage, es gab Undichtigkeiten durch ungeeignetes Material (am besten geeignet Phriolen und Metallschläuche), die die CO-Konzentration kontinuierlich zum Sinken brachten. Zur besseren Anschaulichkeit der Expositionsbedingungen dienen die Abbildungen der Polykomb-Registrierstreifen (Abb. 24). Außer den langzeitigen Intoxikationen wurden auch akute Intoxikationen mit höheren CO-Konzentrationen ausgeführt, zur Darstellung der sicher wirksamen Giftmengen. Daraus ergab sich eine stufenweise Aufgliederung der Expositionen, die in der Tabelle 2 wiedergegeben ist.

	TAB. 2	1	2	3	4
A	CO-Konzentration der Luft in ppm	200	1000	3000	mehrere (tödlich)
B	Zeit	4-10 Wochen	1-2 Wochen	2-6 Tage	1 Tag bis 3 Wochen
C	Zahl der Tiere	9	9	5	3

A 1 - diese Konzentration wurde mit dem "URAS II" bestimmt, Meßbereich 0 - 500 ppm CO, s. Polykomb-Streifen, Abb. 24

A 2, A 3 - "URAS II", ein Modell mit Meßbereich von 0 - 4000 ppm

A 4 - die Tiere wurden einzeln im kleinen Exsikator mit 20 ml reinem CO angegiftet, nach wenigen Sekunden zeigten sie unruhiges Verhalten, dann massive Krämpfe und schließlich kollabierten sie. Dann wurden sie sofort herausgenommen und ans "offene Fenster" gelegt. Die Atmung sistierte. Regelmäßig nach 20 - 40 Sek. haben sie wieder spontan den ersten Atemzug getan, ihm folgten zuerst in unregelmäßigen Abständen weitere schnappende Atemzüge. Erst nach 5 - 8 Min. regelte sich die Atmung und das Tier reagierte auf Schmerzreize. Unsicherer Gang war noch längere Zeit zu beobachten. Dieses äußere Bild der Vergiftung und vor allem die charakteristische spontane Erholung war bis vor kurzem wenig bekannt, erst LENGGENHAGER (16) hat 1966 auf sie hingewiesen. Ein Tier, R 47, wurde so innerhalb von 3 Wochen insgesamt 6 mal vergiftet. Ein anderes, R 37, wurde am Tage nach der Vergiftung getötet. Ein drittes, R 35, wurde kurz nach der Synkope getötet.

B 1 - diese Tiere R 51, R 55 waren 10 Wochen exponiert, abwechselnd eine Woche nur tags oder nur nachts, tags 8 Std., nachts 14 Std. Die Tiere R 19 - 25 waren 4 Wochen exponiert, sonst genauso wie R 51.

B 2 - die Tiere R 40 - 44 waren 2 Wochen exponiert, die Tiere R 26 - 29 waren 10 Tage exponiert.

B 3 - das Tier R 45 ging bei der zweiten Exposition ein, das Tier R 46 bei der vierten, beide waren nicht länger als 2 Stunden exponiert. Die Tiere R 49 - 51 wurden danach noch 4 mal vergiftet.

B 4 - R 35 wurde mittels CO direkt getötet. R 37 wurde 6 mal am Vorabend angegiftet (Synkopen mit Krämpfen). R 47 wurde 6 mal in 3 Wochen exponiert (Synkopen).

Insgesamt bildeten 11 Tiere die Kontrollgruppe ohne CO-Exposition.

Erläuterung der Expositionsanlage (Abb. 1, S.24)

Es handelt sich hier um ein geschlossenes ökologisches System, geeignet für protrahierte Expositionen von Versuchstieren unter gleichbleibenden Versuchsbedingungen. Die Luft im Expositionskäfig wird ständig regeneriert, die Meßdaten der Luftzusammensetzung, Feuchtigkeit, Außen- und Innentemperatur werden laufend mit einem Punktschreiber registriert. Die Anlage eignet sich nicht nur für CO-Expositionen, sondern auch für andere Gase oder Dämpfe.

In der Tab. 3 sind alle Versuchstiere nach ihrer Exposition und Vitalfärbung zusammengestellt. Die Angabe der CO-Hb-Werte antizipiert schon die später mitgeteilten Ergebnisse, um eine leichtere Orientierung zu erreichen.

Tab. 3

Nr.	Tier	Exposition	$CO_{\%}Hb$	g Tiergew. 1 m³ Farbs.
1	R 52	4 – 11 Wochen × 200 ppm	34	30
2	R 53			
3	R 49		5.7 – 6.4	100
4	R 50			
5	R 51			
6	R 22			
7	R 23			
8	R 24			
9	R 25			
10	R 40	2 Wochen 800 – 1000 ppm	34.0	60
11	R 41			
12	R 42			
13	R 43			
14	R 44			
15	R 26		37	120
16	R 27			0
17	R 28			120
18	R 29			
19	R 45	2 × 3000 ppm 1 h.		0
20	R 46	4 × 3000 ppm 1-2 h.		0
21	R 47	6 Synkopen in 3 Wo.	62.0	30
22	R 49	6 3000 ppm 1-5 h.	16.6	30
23	R 50			
24	R 51			
25	R 35	nach 1 Synkope getöt.	55.0	60
26	R 37	6 Synk. am Vorabend		60
27	R 30	Vergleichstiere	⌀	40
28	R 31			
29	R 32			
30	R 33			0
31	R 34			0
32	R 36			60
33	R 39			
34	R 38			0
35	R 48			30
36	R 53			
37	R 54			

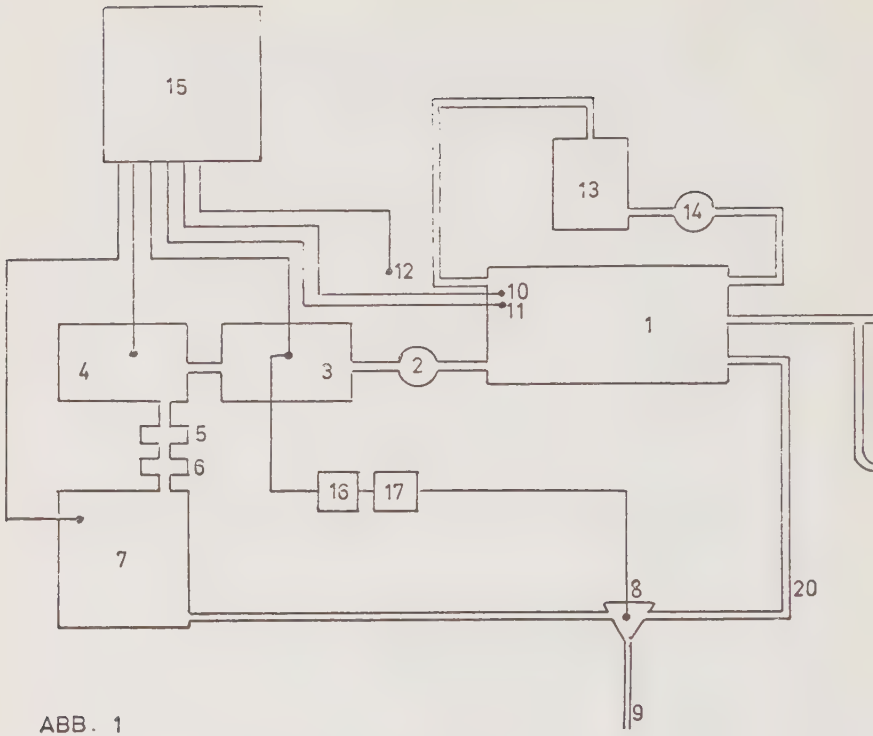


ABB. 1

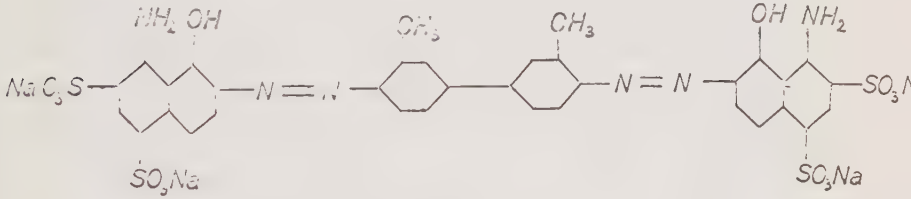
1. Tierbehälter, Außenmaße: 843 x 543 x 400 mm
2. Luftumwälzpumpe, Leistung: 60 l/h.
3. Sauerstoffmeßgerät
4. CO_2- URAS
5. CO_2 - Waschflasche mit Draeger-Adsorbens
6. H_2O Adsorption ($MgCl0_4$ oder Silicagel)
7. CO - URAS II
8. 3-Weg-Ventil (Fa. "Lucipher")
9. Sauerstoffzufuhr (Druckflasche mit Reduzierventil)
10. Temperaturmeßfühler, innen
11. Feuchtigkeitsmeßfühler (beide Fa. Hartmann & Braun)
12. Temperaturmeßfühler, außen
13. Luftregenerierkolonne mit Adsorbentien
14. Luftumwälzpumpe, Leistung : bis 200 l/h.
15. "Polycomb"-Registriergerät (Punktschreiber)
16. Min.-Max.-Regler
17. Verstärker
18. Wassermanometer
19. CO-Applikationsstelle
20. Luftleitungen

2.1.2. Methodik der angewandten Färbungen

Vitale Färbung

Verwendeter Farbstoff: Geigy - Blau 536 med., identisch mit Evans - Blue T 1824.

Chemische Formel: - 1 - NH_2-2,4 (NaO_3S_2)- 8HO$C_{10}H_3$-7-N=NC_6H_3-2--CH_3-4- 2



Es ist ein fast nicht toxischer Farbstoff (STOCKINGER, 35), gut wasserlöslich. Er wird sehr langsam ausgeschieden, nach 24 Stunden sind noch 50 % der applizierten Menge im kreisenden Blut vorhanden (9).

Die trockene Substanz wurde in phys. Kochsalzlösung aufgelöst und eine 1 %-Farbstoffkonzentration hergestellt. Diese unfiltrierte Lösung wurde - analog dem Verfahren mit Trypanblau nach ROMEIS (25) und V. MOELLENDORFF (20) - den Ratten subcutan auf dem Rücken eingespritzt. Die Einspritzung erfolgte im Chloräthylrausch. Um normierte Mengen des Farbstoffs zum Zeitpunkt des Todes im Körper der Tiere vorzufinden, wurden sie 14 - 16 Stunden vor dem Tode eingespritzt. Auf 30 g Tiergewicht wurde 1 ml 1 %-er Lösung verwendet (nicht in allen Fällen, s. Tabelle 3), d.h. bei 300 g

schweren Tieren 10 ml. Diese Menge wurde in zwei Portionen auf beiden Seiten des Rückens eingespritzt, um die Quaddel nicht zu groß zu machen. Am folgenden Tag waren die Tiere äußerlich stark blau gefärbt, d.i. die Haut, Ohrenspitzen, Nase, Pfoten. Für die vitale Färbung wurde ursprünglich das an sich wenig toxische Trypanblau vorgesehen (und auch verwendet), das Geigy - Blau wurde jedoch zur Untersuchung der Blut-Hirnschranke besonders empfohlen und ist noch weniger toxisch (LEONHARDT, 17, STOCKINGER, 35). Trypanblau und Geigyblau sind bei gleichen Konzentrationen und gleichen optischen Vergrößerungen mit gleicher Deutlichkeit sichtbar (17).

Supravitale Färbung.

Farbstoff: Neutralrot in 0.025% Ringerlösung.

Ein Stück Lebergewebe und eine Nierenhälfte wurde sofort nach der Entnahme in 37° vorgewärmte Neutralrot-Lösung gelegt und in den Brutschrank bei 37° für eine halbe Stunde gestellt. Dann wurden die Gewebestücke für eine weitere halbe Stunde in reine Ringerlösung gelegt, bei der gleichen Temperatur. Von so gefärbten Organen wurden anschließend möglichst dünne Schnitte gemacht, was sehr schwer war, bei der weichen, unfixierten Konsistenz. Sie wurden sofort unter dem Mikroskop betrachtet. Diese Methodik stammt von SHTABSKIJ (34).

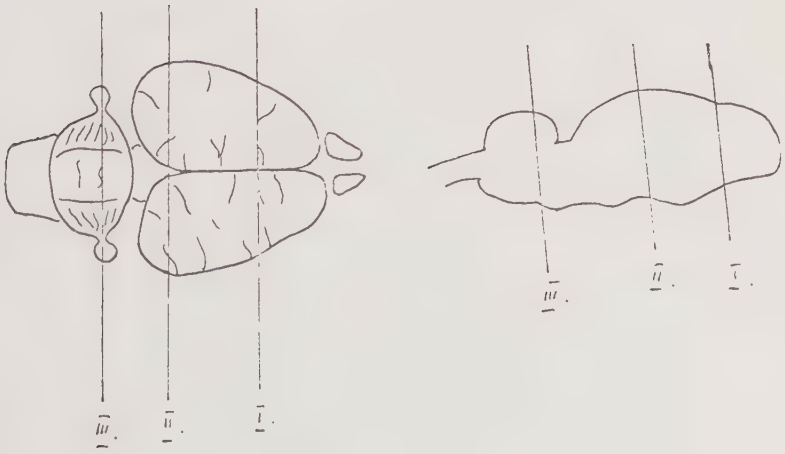
Die Tiere wurden im Chloräthylrausch mit einer Schere dekapitiert. Diese Art der Tötung war die schnellstmögliche, die Tiere konnten sich nicht wehren und daher auch nicht hyperventilieren, was für die CO-Hb und pH-Untersuchungen von Vorteil ist. Das Blut wurde sofort in geeignete Behälter aufgefangen

Zuerst wurde das Gehirn herausgenommen. Die Zeit von der Dekapitation bis zum Einlegen des Gehirns in Formalin betrug durchschnittlich 3', ± 1', (Kontrolle mit Stoppuhr). In einem anderen Gefäß mit Formalin wurde eine Niere und ein Leberstück fixiert. Die verbliebenen Reste nach der supravitalen Färbung wurden ebenfalls ins Formalin gelegt.

Alle formalinfixierten Organe bzw. Stücke wurden im Paraffin eingebettet und mit dem Mikrotom zu 10 und 20 µ dicken Schnitten verarbeitet. Das Gehirn wurde in folgenden Ebenen geschnitten (Abb. 2).

An parallel angefertigten Schnitten wurden Färbungen mit Hämatoxylin-Eosin (HE) und Kresyl-Violett durchgeführt. Alle histologischen Schnitte wurden in Caedax eingebettet.

ABB. 2



2.1.4. Labormethoden

Bei der Dekapitation wurde das Blut für folgende Untersuchungen gesammelt:

alkalische Phosphatase (AP)

Harnstoff (U)

Zucker (Z)

pH

Hb

CO-Gehalt des Blutes, hieraus das CO-Hb

Vorversuche zeigten, daß ein Kompromiß zwischen der Labordiagnostik und der Geigyblau-Färbung geschlossen werden mußte, weil zu starke Farbstoff-Applikationen das Serum so blau färbten, daß die photokolorometrischen Bestimmungen gestört wurden. Die Einspritzmenge 1 ml 1% Farbstofflösung pro 30 g Ratte stellt schon die obere Grenze des Kompromisses dar. Vergleichende photometrische Untersuchungen der Blutwerte an der gleichen Ratte, vor und nach der Farbstoffgabe, haben die Sicherheit gegeben, daß die zu messenden Werte bei dieser Dosis noch nicht durch die Blaufärbung des Serums verändert werden.

Blut für AP, U, Z, wurde in einem Plastikröhrchen direkt zum Zentrifugieren aufgefangen und nach den üblichen Vorschriften behandelt, die Werte wurden mit dem Photokolorimeter PL - 4 von Zeiss abgelesen.

Als Antikoagulans, bei der CO-Hb-Bestimmung, wurde 3,8 %-ge Citratlösung verwendet. Das aufgefangene Blut wurde mit dieser Lösung im

Verhältnis 3 : 1 versetzt. Bei einigen Tieren wurden gesonderte CO-Hb-Bestimmungen durchgeführt, für jedes Tier einzeln, ansonsten wurde das Blut von mehreren Ratten derselben Expositionsserie zusammengetan und dann erst das CO-Hb bestimmt. Das "Mischblutverfahren" wurde wegen des geringeren Aufwands und wegen der erhöhten Genauigkeit der Messung durchgeführt. (Bei größeren Blutmengen erhöht sich die Genauigkeit der Bestimmung erheblich).

Die CO-Hb-Sättigung wurde mit der von ZORN (40) modifizierten Methode Rossmans bestimmt. Diese Methode ist bisher die genaueste, die bekannt ist (27). Sie beruht auf der Bestimmung des CO auf physikalischem Wege mit dem schon erwähnten (2.1.2.) Infrarotabsorptionsschreiber "URAS II", in den Blutgasen, welche man bei der völligen Zerstörung des Hämoglobins und Entgasung des Blutes im modifizierten van-Slyke-Gerät gewinnt.

Das Hb wurde durch Kaliumferricyanid-Kaliumcyanid-Reagens in das stabile Hämiglobincyanid übergeführt, dessen Konzentration photokolorimetrisch bestimmt werden kann. Zur Kontrolle wurde auch die Vollsättigung mit CO bestimmt. Ablesung erfolgte wegen der durch CO-verzögerten Cyanhäminbildung immer erst nach 30 Min.

Der pH-Wert wurde mit dem ASTRUP-Gerät bestimmt.

2.2.0. ERGEBNISSE

2.2.1. Auswertung der Färbungen

Hämatoxylin-Eosin und Kresyl-Violett Färbungen.

Gehirnschnitte:

Im folgenden werden gruppenweise, wie es die Expositionsübersicht von S. 20 aufweist, die Gehirnschnitte besprochen, mit besonderer Berücksichtigung, d.h. Detailbeschreibung, von zwei gleichsam entgegengesetzten Gruppen - einerseits jener mit chronischer Exposition bei geringer CO-Konzentration, andererseits jener mit kurzer Exposition bei starken CO-Konzentrationen. Die Expositionen mit mittleren, dazwischenliegenden CO-Konzentrationen von 1.000 und 3.000 ppm, weisen bei der Übersicht der Präparate geringere Veränderungen auf, so daß sie sich zwanglos in die kürzere bzw. längere Behandlungsperiode einreihen lassen. (Abb. 7 - 15). Die Schäden, bzw. Veränderungen werden anhand von repräsentativen Präparaten dargestellt.

Exposition zu 200 ppm über 10 Wochen:

Schon bei kleiner Vergrößerung (10 x) sieht man Blutungen in weichen Hirnhäuten (Tiere R 52, R 55) und wabige Auflockerung des Gliafaserfilzes, als Ausdruck des Ödems oder Abblassungsherdes. Es fällt die grobe Textur auf. Diese Faserauflockerung war besonders deutlich ausgeprägt in der Stammhirngegend, d.h. im Querschnitt durch den IV Ventrikel (Schnittebene III, Abb. 2, S.27). Die Blutungen in den weichen Hirnhäuten verdienen deshalb die Aufmerksamkeit, da sie nicht durch Blutstauung entstehen konnten, z.B.

durch Strangulation, da die Dekapitation ohne Strangulation durchgeführt wurde.

Bei stärkerer Vergrößerung (45 x) sind folgende Veränderungen zu verzeichnen - schwere degenerative Schäden der Ganglienzellen, einerseits als Schattenzellen mit Karyolyse und andererseits mit Pyknose - letzteres vor allem an den großen Ganglienzellen. Es findet sich bereits Mikrogliareaktion mit Zellen in Satellitenstellung. Der Ausfall der Ganglienzellen zeichnet sich durch eine Rarefizierung der Pyramidenzellschichten aus, auch die Purkinje-Zellen sind davon nicht ausgenommen, sie zeigen Lücken von 6 - 10 Zellen, die oft chromatolytisch oder pyknotisch sichtbar sind. Bei stärkster Vergrößerung fällt eine Verstümmelung der Pyramidenzellfortsätze auf, die im Vergleich zu unbehandelten Tieren entweder ganz fehlen oder nur bruchstückweise vorhanden sind. Normale Zellen zeigen in der Regel sehr deutlich einen Neuriten und mehrere Dendriten. Blassere Ganglienzellen haben meist noch Nukleoli (R 53, R 54). Das Cytoplasma der großen Ganglienzellen ist bei den behandelten Tieren teils aufgelockert, mit Nissl' Schollen, teils hyperchromatisch. Umschriebene Mikrogliazellproliferate sind nicht vorhanden. Der Gefäßinhalt ist leicht bläulich getönt, wahrscheinlich handelt es sich hier um Farbstoffreste der Vitalfärbung.

Gruppe 4 (nach Tab. 2)

Diese Gruppe wird am Beispiel des VT R 47 besprochen. Es wurde mit kritischen CO-Konzentrationen bis zur Synkope behandelt, aber über kurze Zeiten, insgesamt 6 mal, genaueres s. 2.1.2. Bei kleinerer Vergrößerung sieht man feinwabiges Ödem in Ventrikelnähe und auffallende starke Hyperämie

der Kapillaren, das ganze Kapillarnetz ist deutlich gefüllt und sichtbar, außerdem finden sich Blutungen in den weichen Hirnhäuten. Bei genauer Übersicht stellt man noch ein Zellödem des Ependyms fest. Die Ganglienzellen haben oft noch Fortsätze, Schattenzellen sind verhältnismäßig selten. Auffallend ist das subintimale Ödem größerer Arachnoidea-Gefäße. Purkinje'Zellen sind geschädigt, verklumpt, aber kaum vermindert, oft mit nur stummelhaften Fortsätzen. Der anatomisch-pathologische Befund beim Tier R 37 zeigt ein weiteres Beispiel einer akuten Vergiftung: kapillare Blutfülle mit Ringblutungen, intraarachnoidale Blutungen, Intimaödem größerer Gefäße, hydropische Quellung der Ependymzellen, feinwabiges Marködem - im Gegensatz zu dem grobwabigen der chronisch vergifteten Tiere - außerdem keine Gliareaktion, selten Ganglienzellschäden, letztere am ehesten noch in der Purkinje'Zone.

Das Ergebnis dieser Befunde läßt sich dahingehend zusammenfassen, daß es gelungen ist, Schäden mittels der CO-Exposition zu setzen und einzuteilen. Ein weiteres Ergebnis ist, daß unzweifelhaft festgestellt wurde, man könne mit geringeren CO-Konzentrationen Schäden setzen, wenn die CO-Exposition lange genug angedauert hat. Damit wäre ein alter toxikologischer Satz, welcher besagt, daß die Konzentration und die Dauer der Einwirkung eines Giftes für die Wirkung verantwortlich sind, in bezug auf das Kohlenmonoxyd anzuwenden. Weitere Überlegungen über die Konsequenzen dieser Sicht der CO-Toxikologie werden noch später (3.5.0.) angestellt.

Vitalfärbung mit Geigy - Blau.

Gehirn: makroskopisch waren alle Gehirne sehr hell, selbst bei sonst intensiv gefärbten Tieren. Dieser Farbunterschied zu anderen Organen war sehr augenfällig. Dagegen konnte man zwischen Gehirnen von einzelnen Tieren Farbdifferenzen wahrnehmen, einige waren hell bis rosagelb, die anderen waren eher schmutzig-blaß-gelb. Dieser feine Unterschied ist wohl auf die verschiedenen Farbstoffmengen zurückzuführen. Mikroskopisch war dieser feine Farbunterschied nicht mehr zu erkennen. Die 20 µ-dicken Gehirnschnitte ließen sich ihrer Farbintensität nach nicht einordnen. Auch noch dickere Schnitte, die in einigen Fällen angefertigt wurden, ließen eine n Farbunterschied nicht nachweisen. In den Gehirnzellen, die den Farbstoff aufwiesen, ist er diffus verteilt. Die Zwischensubstanz, besonders die perikapillären Räume, weisen ebenfalls eine homogene, zartblaue Anfärbung auf, deren Intensität der applizierten Farbstoffmenge proportional zu sein scheint. Dieser Farbstoff ist auch noch in den HE- und Kresyl-Violett Färbungen zu sehen.

Leber: Makroskopisch war das Lebergewebe dunkelblau bis fast schwarz, je nach der gespritzten Farbstoffmenge.
Mikroskopisch kann man eine diffuse Farbstoffspeicherung im Cytoplasma sehen (10 µ -Schnitte). Die Kerne der Kupfferschen Zellen sind intensiv blau, aber von unterschiedlicher Dichte.

Niere: Makroskopisch waren die Nieren ebenfalls deutlich blau bis schwarz.

In histologischen Schnitten (10 µ) fiel eine farbliche Aussparung der Glomeruli auf. Die umgebenden Tubuli sind unterschiedlich stark angefärbt, d.h. es gibt Farbunterschiede nicht nur zwischen den einzelnen Teilen derselben Nephrone, sondern auch zwischen einzelnen Nierenteilen. Die Zellen der Tubuli waren von allen untersuchten Organen zweifellos am intensivsten gefärbt, das Cytoplasma speicherte den Farbstoff teils in granulärer, teils in diffuser Form. Nicht-exponierte und CO-exponierte Tiere zeigten hierbei keinen Unterschied.

Supravitalfärbung (s. Abb. 16, 17, 18, 19, 20,)

Die Methodik dieser Färbung mit Neutralrot wurde im Abschnitt 2.1.3. dargelegt. Um eine bessere Objektivierung der Beurteilung zu erreichen, wurden Leber und Niere einmal sofort nach der Supravitalfärbung und dann nach der Anfertigung der histologischen Schnitte ausgewertet. Es galt, die handgemachten frischen "Schnitte" durch gleichmäßig dicke Mikrotomschnitte zu kontrollieren. Den Farbstoff nahm nur die Gewebsoberfläche auf, wobei die Schnittflächen viel intensiver und tiefer gefärbt wurden, als die natürlichen Oberflächen. Die Farbe des Neutralrots, karminrot, ist in den Präparaten unverändert geblieben, die dicken Stellen hatten naturgemäß dunklere Farbe, als dünnere, wo durch die Verdünnung die Farbe orangerot bis gelb war. Der Farbstoff hat sich auf zweierlei Weise an das Gewebe gebunden, in diffuser

und in granulärer Form. Die Granulabildung konnte einwandfrei festgestellt werden. Diese intrazellulären Granula hatten eine hell- bis dunkelrote Farbe. Die Granulabildung trat sowohl bei CO-exponierten, als auch bei Vergleichstieren in gleicher Weise auf (Abb. 16 - 19). Soweit stimmt diese Feststellung, daß die Granulabildung durch CO-Exposition nicht beeinträchtigt wird, mit dem Ergebnis von SHTABSKIJ (34) überein. Diese Granula des gespeicherten Farbstoffes lagen auf dem Hintergrund des homogen-diffus gefärbten Gewebes. Der diffus verteilte Farbstoff war sowohl intrazellulär, als auch extrazellulär zu beobachten.

Farbintensität und Form der Farbstoffspeicherung zeigen damit:

- keinerlei Abhängigkeit der Farbintensität im Gewebe von der CO-Exposition. Dies gilt für frische Schnitte und die Organe Niere, Leber, Gehirn.
- Die Farbintensität steht in direkter Abhängigkeit von der Dicke der handgemachten Schnitte.
- Die Form der Speicherung war gemischt, diffus und granulär (Abb. 17, 18). Die Präparate unterschieden sich nicht durch mehr diffuse oder mehr granuläre Färbung.
- Die Intensität der Diffusfärbung konnte nicht gemessen werden und ein Vergleich der Intensitäten war somit nicht möglich. SHTABSKIJ hat hierfür (34) ein besonderes Verfahren angegeben, welches auf der Behauptung basiert, daß die Gewebe bei Diffusfärbung mehr Farbstoff aufnehmen, als bei granulärer. Dieses Verfahren ist jedoch mit sehr vielen Fehlerquellen behaftet, weshalb es hier nicht verwendet wurde (weiteres darüber s. 3.2.0.).

2.2.2 Spezielle Untersuchungen zur Prüfung der Blut-Hirnschranke

Nach sorgfältiger Durchsicht aller vorliegender Präparate lassen sich folgende Schlüsse bezüglich der Frage nach der Schädigung der Blut-Hirnschranke durch die Kohlenmonoxydexposition ziehen:
eine statistisch überzeugende Darstellung der Blut-Hirnschrankenstörung mit Hilfe der vitalen Geigyblau-Färbung konnte nicht erreicht werden. Die Färbung des Gehirns mit Geigyblau ist mikroskopisch mit der angewandten Methodik schwer reproduzierbar. Makroskopisch lassen sich jedoch Farbunterschiede an den paraffineingebetteten Gehirnquerschnitten feststellen (s. Abb. 23). An den mikroskopischen, 20 µ-dicken Schnitten ist stellenweise eine deutliche blaue Farbe der Gefäßwand zu erkennen, die elastica interna. Um die Gefäße ist eine homogen angefärbte Zone zu erkennen, die den verbreiteten Virchow-Robin'schen Räumen entspricht, was schon im vorgehenden Abschnitt beachtet wurde, bei der Besprechung der HE und Kresyl-Violettfärbungen. Auch einige Ganglienzellen (R 42, R 43) des Thalamus und des Zwischenhirns zeigen eine leicht bläuliche, diffuse Färbung. Selten trifft man Zellen mit deutlich blau gefärbten Kernen, von ungleicher Dichte, deren Cytoplasma nur ganz schwach angefärbt ist. Diese Zellen sind als Mikrophagen anzusprechen. Die Zwischenzellräume scheinen den Farbstoff eher anzunehmen, als die Zellen selbst. In der Nachbarschaft der plexus chorioidei ist eine Geigyblau-Anreicherung nicht feststellbar, auch gibt es keine lokalisierten Gebiete mit Farbstoffanreicherung. Obwohl die Störung der Blut-Hirnschranke in einigen Fällen sicher vorhanden war, - bei lang exponierten Tieren hatten wir in HE- und Kresylviolett-Schnitten

deutliche Schäden objektiviert (s. S. 30) - hat sich das Gehirnparenchym nicht in dem Maß blau angefärbt, wie es nach LEONHARDT zu erwarten war.

Die Gehirne zeigten bei der Sektion deutlich hellere Farbe, als es der sonstigen Farbintensität der übrigen Organe entsprechen würde. Im Vergleich mit vital nicht gefärbten Tieren, waren die Gehirne der vitalgefärbten "schmutzig-grau-gelb" auf der Oberfläche. Eine Farbdifferenz zwischen CO- und Nulltieren war bei der Sektion der Gehirne nicht feststellbar. Daß aber die Blut-Hirnschranke doch sehr effektiv funktioniert, kann man in allen Fällen daran sehen, daß der Farbstofftest weder bei CO-exponierten Tieren, noch bei Nulltieren ein Versagen dieser Schranke zeigte: nur das Gehirn zeigte eine hellere Farbe, während die anderen Organe dunkelblau bis schwarz angefärbt waren.

2.2.3. Tabellen der durchgeführten Blutuntersuchungen

In einigen Fällen ist das Untersuchungsprogramm nicht vollständig, zu ersehen an den ausgelassenen Stellen in den Tabellen. Meistens ist dies auf mangelnde oder sicher fehlerhafte Ergebnisse zurückzuführen (starke Hämolyse, Blutmangel). Manchmal war es allerdings auch Schuld der Apparate, die nicht zuverlässig genug gearbeitet haben.

TAB. 4

Nr	Tier	Exposition	alk Ph I E	Zucker mg%	Harnstoff mg%	pH	Hb g%	CO Hb %
1	R_{30}		38.4	112	25.7	7.51	1.2	
2	R_{31}		27.3	124	25.7		13.2	
3	R_{32}		27.3	138	28.0		12.9	
4	R_{33}		25.3	143	28.4	7.40	11.4	
5	R_{36}		19.0	114	44.5			
6	R_{39}	∅	47.7	138	31.2	7.43	14.8	
7	$R_{..}$		36.0	134	42.7	7.45	15.0	
8	R_{40}		40.0	110	47.2	7.32	13.6	
9	R_{53}		22.5	110	45.0	7.35	15.0	
10	R_{54}		32.4	105	30.0	7.46	14.8	
11	R_{52}	10 Wochen	25.6	125	30.0	7.37	16.4	3.4
12	R_{55}	× 200 ppm	28.2	85	42.8	7.34	13.8	3.4
13	R_{19}		44.0	117	60.0	7.32	12.2	6.4
14	R_{20}	4 Wochen	38.0	122	43.8		12.1	6.0
15	R_{21}	× 200 ppm	48.0	134	43.8			
16	R_{22}		44.0	128	57.8			
17	R_{23}		44.0	156	42.7	7.53	12.3	5.7

Tab. 4 (Forts.)

Nr	Tier	Exposition	alk. Ph I.E.	Zucker mg%	Harnstoff mg%	pH	Hb g%	CO-Hb %
18	R_{40}	2 Wochen * 600 - 1000 ppm	31.3	100	30	7.44	13.4	34
19	R_{41}					7.42	19.2	34
20	R_{42}		25.0	110	35.4	7.39	19.6	34
21	R_{43}		23.9	140	39.6	7.37	16.9	34
22	R_{44}		29.5	116	34.3	7.45	19.2	34
23	R_{26}		41.4		43.8		15.1	37
24	R_{28}		27.6		66.4	7.33		37
25	R_{29}				37			37
26	R_{37}	6 Synk. am Versuchstag	24.0	100	33.1	7.50	13.6	
27	R_{35}	nach 1 Synkope getötet	20.2	179	48.8			55
28	R_{45}	2 × 1 Std. 3000 ppm	44.2	304	45.5	7.10		
29	R_{46}	4 × 1-2 Std. 3000 ppm	65.0	320	69.1	7.10		
30	R_{47}	6 Synkopen in 3 Wochen	66.0			7.29	14.3	62
31	R_{48}	6 × 1-5 Std. 3000 ppm	19.3	105	47.2	7.44	16.1	17
32	R_{50}		26.2	105	45.0	7.34	16.1	17
33	R_{51}		26.5	110	30.0	7.35	16.5	17

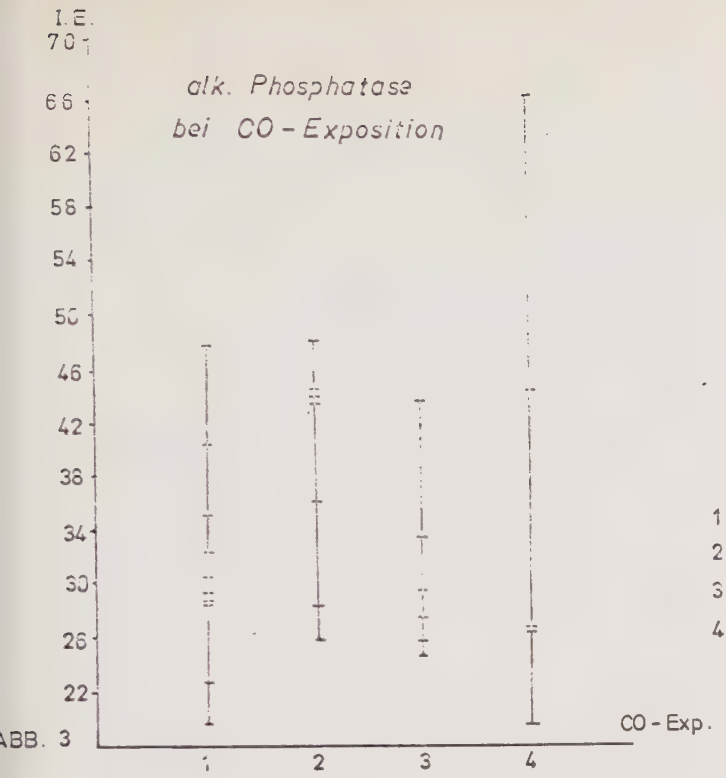
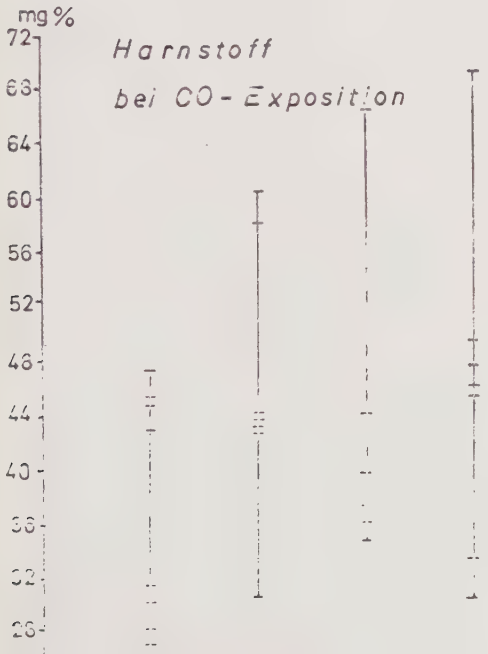

I.E.
70
66
62
58
54
50
46
42
38
34
30
26
22
alk. Phosphatase
bei CO - Exposition
1 Nulltiere
2 10 Wo. × 200 ppm
3 2 Wo. × 1000 ppm
4 6 × 4 Std. × 3000 ppm
CO - Exp.
1
2
3
4

ABB. 3


mg %
72
68
64
60
56
52
48
44
40
36
32
28
Harnstoff
bei CO - Exposition

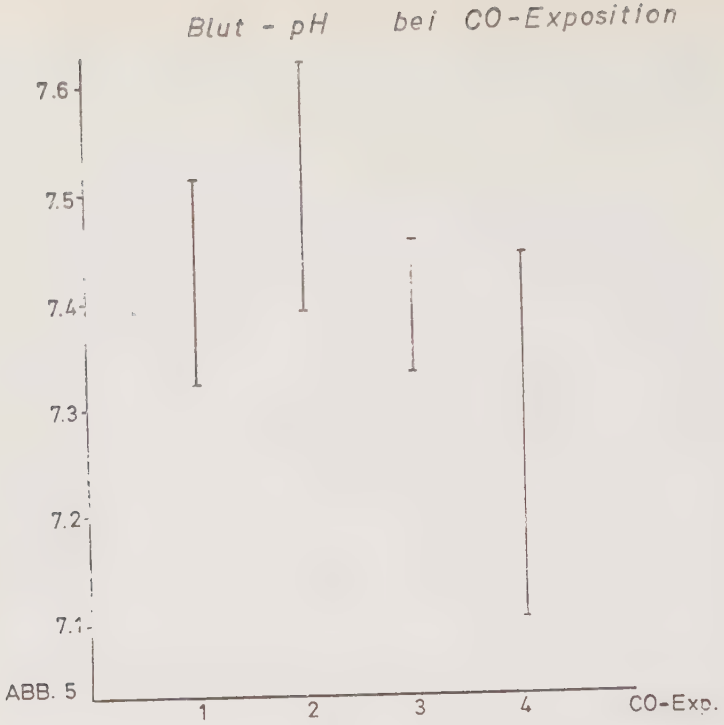

Blut - pH bei CO-Exposition
7.6
7.5
7.4
7.3
7.2
7.1
1
2
3
4
CO-Exp.

ABB. 5

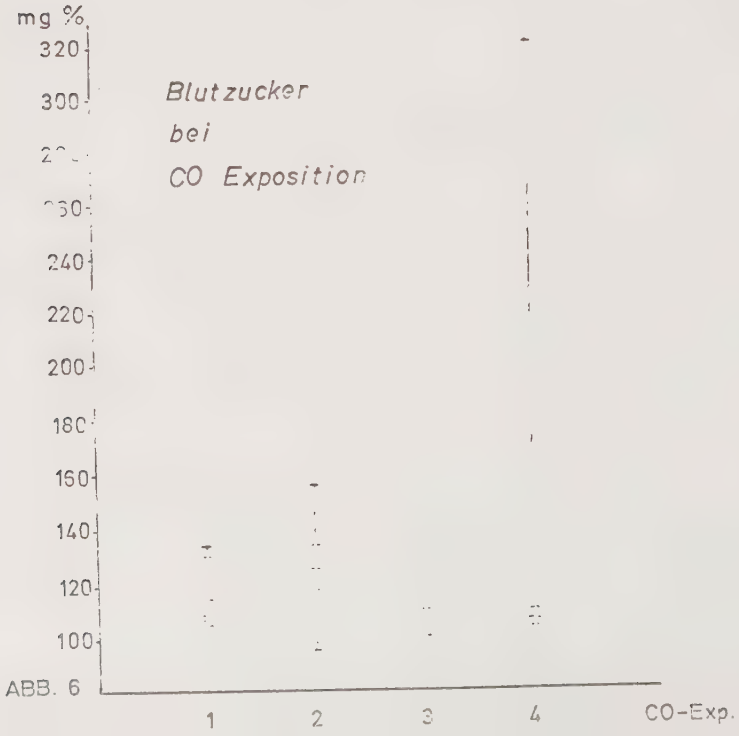

mg %
320
300
240
220
200
180
160
140
120
100
Blutzucker
bei
CO Exposition
1
2
3
4
CO-Exp.

ABB. 6

3.0.0. Diskussion

3.1.0. Vergleich der allgemeinen anatomisch-pathologischen Befunde mit Literaturangaben

Die anatomisch-pathologische Erforschung der CO-bedingten Schäden ist in der eingesehenen Literatur einerseits umfangreich, andererseits aber in ihrem Aussagewert relativ unverbindlich, weil man meist mit Befunden nach akuten, tödlich verlaufenen CO-Vergiftungen zu tun hat. Die Pathologen beschreiben in diesen Fällen vor allem Veränderungen des ZNS, ferner Schäden am Herzen (im Sinne der Infarzierung) und in der Leber (multiple Leberzellnekrosen). Diese Befunde, hier nicht angezweifelt, betreffen eine Situation, die im wesentlichen durch akuten Sauerstoffmangel gekennzeichnet ist. Bei den hier durchgeführten Versuchen hatten wir auch mit akuten Vergiftungen experimentiert. Der Befund an Rattenhirnen, dargestellt im Abschnitt 2.2.1., weicht nicht wesentlich von den Angaben ab, die QUANDT (24), PETRY (44), MANZ (41) u.a.m. schon angegeben haben. Eine Hyperämie der Kapillaren war überzeugend dargestellt. Eine topographische Analyse der Schäden des ZNS wurde hier nicht angestrebt und es ergaben sich in dieser Hinsicht keine sofort ins Auge springenden Befunde; eine besondere "Vorliebe" des CO für gewisse Hirnpartien konnte bestätigt werden (Ammonshorn, 2-e und 3-e Pyramidenzellschicht). Die bevorzugten Läsionen der o.e. Pyramidenschichten (MEYER, 24) und die Schädigung

der Purkinje'Zellschicht sind jedoch bei Hypoxien anderer Ursachen (N_2O, Cyanid, - KREUZER, 14, PRAVDIN, 22) ebenfalls zu beobachten. Die Hyperämie des Gehirns ist allerdings so hochgradig, wie sie beim Erstickungstod nicht aufzutreten pflegt, nach E. PETRI (24) ist sie nur vergleichbar mit jener nach Einwirkung von Blausäure. Diese Hyperämie mit Injektion der Piagefäße bis in die kleinsten Verzweigungen, weiter kleine Hämorrhagien in dem Hirnparenchym und den Hirnhäuten, beschrieb auch HAGEN (zit. nach QUANDT, 24). Die ebenfalls von ihm beschriebenen Lymphocytenansammlungen sind in unserem Material nicht beobachtet worden.

Viel weniger Material liegt naturgemäß bei dem Vergleich mit chronischen Versuchen der CO-Vergiftung vor. Hier handelt es sich vorwiegend um experimentelle Tierversuche, daher sind sie nicht ohne weiteres für die menschliche Pathologie anwendbar. Analogien lassen sich gleichwohl herstellen. Auf den Gegensatz zwischen der Spärlichkeit der anatomo-pathologischen Beschreibungen nach chronischen CO-Vergiftungen und den klinischen Befunden weist auch QUANDT (24) hin. Er stellt auch fest, daß die Veränderungen an den Gefäßen (Intimaödem, s. R 47) das Substrat der Hypoxie sind, da sie auch in der gleichen Form nach Phosgen-Vergiftungen beschrieben wurden. Die fokal betonte Degeneration der weißen Substanz, als feinporöse Schwellung erkennbar, ferner Schwellung der Myelinscheiden, die MAYER (24) angibt, konnte im vollen Umfang bestätigt werden. Die feinporöse Schwellung der weißen Substanz steht im Gegensatz zur grobmaschigen bei chronischen CO-

Vergiftungen. Auch LEEL-ÖSSY und PAP (12) führen die von ihnen im anderen Zusammenhang beschriebene Markscheidenschädigung auf eine toxische (CO-)Schädigung der hämatoencephalen Barriere. PETRY (44) zitiert die Beschreibungen der chronischen CO-Vergiftungen von LEWEY und DRABKIN; nach ihren 2-monatigen Expositionen wiesen sie nach, daß kleinere, mehr zerstreut liegende und weniger destruktiv erscheinende histopathologische Veränderungen in der Rinde und weißen Substanz der Großhirnhemisphären, im Globus pallidus und im Hirnstamm vorhanden waren. Diese Schäden sind im Vergleich zu den hier beschriebenen leichterer Natur, was aber weder die einen noch die anderen Ergebnisse in Zweifel stellt. NYSTRÖM (47) konnte bei Ratten, die er über mehrere Monate auf dem CO-Hb-Spiegel von 10 - 20 % gehalten hatte, keinerlei histo-pathologische Veränderungen feststellen. Auch AHLMARK (1) konnte nach einer CO-Exposition von 28 Wochen an Mäusen keine histo-pathologischen Veränderungen objektivieren.

3.2.0. Vergleich dieser anatomisch-pathologischen Befunde unter besonderer Beachtung der Blut-Hirnschranke

Das Ergebnis der vitalen Anfärbung der Versuchstiere, zur Ermittlung der Schädigung der Blut-Hirnschranke, ist nicht positiv zu bewerten. D.h. es ist nicht gelungen, den blauen Farbstoff an den Stellen nachzuweisen, die einen Rückschluß auf die vermehrte Durchlässigkeit der Blut-Hirnschranke erlauben würden. Darüber hinaus sollte noch versucht werden, den Farbstoff

zum Markieren von geschädigten Zellen zu benutzen, in der Vorstellung, daß die Zellmembran einer geschädigten Zelle durchlässiger sei. Diese Anfärbung erfolgte nicht; die unmittelbare Ursache hierfür scheint die nicht genügende Schädigung der Blut-Hirnschranke zu sein. Daher war das Farbstoffangebot an die sichtlich geschädigten Zellen zu klein. Eine Stütze dieser Annahme ist der augenfällige Farbunterschied zwischen dem Gehirn und anderen Organen, der bei der Sektion und noch später - nach der Paraffineinbettung - deutlich beobachtet werden konnte. Der Einwand, daß der Farbstoff durch die mikroskopische Aufarbeitung ausgespült wurde, ist nicht berechtigt, weil es dann auch bei den ebenso behandelten Leber- und Nierenpräparaten zur Ausspülung hätte kommen müssen, was nicht der Fall war. Um das Farbstoffangebot reichlicher und vor allem schneller zum hohen Blutspiegel zu bringen, wäre noch ein Versuch mit i.v. - gespritzten Farbstoff zu empfehlen.

Die Pathogenese der Blut-Hirnschrankenstörung ist nicht genau bekannt. Man weiß nur, daß eine durch Hirnödem verursachte Schädelinnendruckerhöhung dabei pathogenetische Bedeutung haben muß BAUER (3). Das Ödem ist bei den exponierten Tieren sicherlich aufgetreten - s. die anat.-pathologischen Befunde - also mußte auch der intrakranielle Druck erhöht gewesen sein. Der nächste Einwand, daß die Hirnödemisierung bei der Ratte nicht ausgereicht hatte, um die Blut-Hirnschranke wirksam zu stören, ist nur bedingt berechtigt, da wir gesehen haben, daß der Grad der Ödemisierung bei den chronisch CO-exponierten Tieren höhere Ausmaße angenommen hatte. Bei den kurzfristig, hochkonzentriert behandelten Tieren war das Ödem

nicht so stark, eher feinmaschig, in diesen Fällen könnte man bezüglich der Wirksamkeit des Hirnödems unterschiedlicher Meinung sein. Eine weitere Behauptung, daß die Ratte überhaupt "widerstandfähiger" für CO sei, ist ebenfalls nicht berechtigt, da gerade kleine Organismen (wie auch Kinder in bezug auf Menschen, Astheniker) für CO deutlich empfindlicher sind, als größere - dies hängt zusammen mit der Ventilationsgröße und dem Grundumsatz (PETRY, 44, QUANDT, 24), wesentlich aber auch mit Kreislaufgrößen (ZORN, 39).

3.3.0. Zur Kritik der Methodik

Das Prinzip der Methode, die hier verwendet wurde, ist durch den negativen Ausfall der Versuche nicht widerlegt worden. Es müßte versucht werden, mit anderen Mitteln die Funktionsweise der angewandten Methode zu erforschen. Z.B. wäre die Anwendung der Fluoreszenzmarkierung und der Nachweis von fluoreszierenden Stoffen in den Zellen eine mögliche Steigerung der Empfindlichkeit der Methode. Dieser Weg ist schon in der CO-Toxikologie von KORB und DAVID (15) beschritten worden. Als weitere, vielleicht eindrucksvollste Variation dieser Versuchsanordnung wäre ein Versuch mit radioaktiver Markierung und späterer Autoradiographie der Gehirnschnitte denkbar.
Die dargestellte Untersuchung der Blut-Hirnschranke könnte noch methodisch abgerundet werden durch eine Untersuchung der Veränderungen bei chronischer

Hypoxie durch errechnetes Sauerstoffdefizit, welches den Transportausfall durch CO genau simuliert. Dies würde einen zusätzlichen Zeitaufwand erfordern, der für die durchgeführte Arbeit nicht mehr verfügbar war.

Die kritische Betrachtung der benutzten Methodik muß bei der Exposition der Versuchstiere anfangen. Ein geschlossenes ökologisches System, wie das hier verwendete, hat nur begrenzte Möglichkeiten, die normalen Bedingungen zu gewährleisten. Was unbedingt und zuverlässig gesteuert und bewahrt werden konnte - war der Sauerstoffgehalt der Atemluft des Systems. Der Druck innerhalb des Systems war immer dem der Außenatmosphäre gleich, oder nur um wenige cm Wassersäule von ihm verschieden. Die Temperatur, obzwar laufend registriert (alle 48 Sek.), unterlag stärkeren Schwankungen, meist in Form einer "Aufheizung" bis zu einem Niveau ca. 3 - 5° über dem der Außenluft. Die Wärme der Apparate und die der Tiere hat dazu geführt. Die Aufheizung nahm nie bedrohliche Ausmaße an, da durch die langen Luftleitungen und durch die Wände des Exponierkäfigs immer genug Wärme abgegebenwerden konnte. Eine zusätzliche Kühlanlage war nicht notwendig, obwohl sie schon diskutiert wurde. Die rel. Luftfeuchtigkeit lag immer nahe 100 %, der Einbau einer suffizienten Lufttrocknung wäre zu erwägen. Eine für diese Versuchsanordnung sehr wichtige Frage der CO_2-Elimination ist befriedigend gelöst worden, der Anteil dieses Gases ist laufend registriert worden, die CO_2-Absorption hat sich sehr gut bewährt, wie aus den Abbildungen der Registrierstreifen hervorgeht. Ein "steady-state" zwischen der Produktion des Kohlendioxyds und der Absorptionsleistung der Filter hat sich bei ca. 0,8 % ausgebildet, also bei einem diese Untersuchung nicht

störenden Niveau. Durch die Anwendung einer noch größeren Expositionskammer könnte man dieses Niveau herabsetzen.

Zusammenfassend läßt sich also feststellen, daß die Methodik der Expositionen keine wesentlich störenden Einflüsse auf den Ablauf der Experimente gehabt hat.

Die Vitalfärbung mit dem Geigy-Blau ist ein weiterer Punkt der Diskussion; tatsächlich ist hiergegen am meisten einzuwenden - schon die Applikation des Farbstoffs in kurzer Narkose war eine Quelle von unkontrollierbaren Vorgängen die wohl einen Einfluß auf die Hirndurchblutung und somit auch auf den Ausgang des Experimentes haben dürfte, dies wurde durch die gleiche Behandlung von O-Tieren ausgeglichen. Weiter hat die Größe der gesetzten Quaddel sicherlich zu schmerzhaften Reizungen geführt, über deren Einfluß auf die Homeostase des Versuchstieres auch Unklarheit herrscht. Beruhigend wirkt hier die in der Literatur mehrfach bestätigte geringe Toxizität des Geigy-Blau-Farbstoffs. Für die Objektivität der Ergebnisse der Färbung waren mehrere Faktoren verantwortlich: die Art der Farbstoffgabe, die Zeit der Tötung nach der Farbstoffgabe, Art der Tötung (wieder in Narkose), Schnelligkeit der Gehirnfixierung, um die wichtigsten zu nennen. Über den zweiterwähnten Faktor - Zeit der Farbstoffverteilung im Organismus, läßt sich feststellen, daß die relativ breite Zeitspanne von mehreren Stunden, in der Regel zwei Stunden, zwischen den einzelnen Tieren, keine große Rolle gespielt hat, da der Farbstoff sehr lange im Körper verbleibt, d.h. er wird langsam ausgeschieden. Die Art der Tötung war bei allen Tieren die gleiche, also ist ein Fehler vondieser Seite zu vernachlässigen. Die Schnelligkeit

der Gehirnfixierung nach der Tötung ist nach Ansicht von Gehirnpathologen von eminenter Bedeutung für den Aussagewert der später erhobenen Befunde. Um einen Fehler hier auszuschalten, wird eine noch in situ Fixierung, durch Einspritzung des Fixierungsmittels in die abgebundenen großen Halsvenen oder gar in die v.cava sup. empfohlen. Diese Methodik, die erst beherrscht sein muß, konnte leider nicht verwendet werden, was den Aussagewert dieser Arbeit erheblich mindert. Ausgleichend wirkt hier nur die Tatsache, daß ebenfalls alle Versuchstiere in der gleichen Art seziert wurden und die Zeit vom Beginn der Narkose, bis zum Einlegen des Gehirns in Fixationsmittel knapp gehalten werden konnte, mit Schwankungen von 60 - 120 Sek. Wie aus der menschlichen Pathologie bekannt , kann ein Gehirn bis 3 Min. ohne Blutzufuhr bestehen. Bei kleinen Versuchstieren ist diese Frist unbekannt.

Die weitere, in allen Fällen gleiche Behandlung der Gehirne kann nur noch wenige Schwankungen zulassen, die das Ergebnis hätten beeinflussen können; eine Farbstoffausspülung ist nicht erfolgt, wie aus den Analysen der Leber- und Nierenpräparate hervorgeht. Auch von einer Abblassung des Farbstoffs kann nicht die Rede sein, weil er noch Monate nach der Eindeckung in allen Präparaten unverändert zu sehen ist.

3.4.0. Kritische Wertung der Supravitalfärbung mit Neutral-Rot, Stellungnahme zu den Ergebnissen von Shtabskij

Jede wissenschaftliche, im Experiment gewonnene Erkenntnis setzt ihre Reproduzierbarkeit voraus. In dieser Überzeugung wurde auch hier versucht, die Arbeiten von Shtabskij in etwas abgewandelter Form zu wiederholen. Er hat Versuche mit chronischen CO-Intoxikationen an Mäusen veröffentlicht und ist zum Schluß gekommen, daß der CO-Einfluß sowohl in vivo als auch noch stärker in vitro die Zellen schädigt, und zwar auf Grund seines direkt toxischen Effekts. Zu diesem Schluß ist er bei der Auswertung von Supravitalfärbungen gekommen, die er selbst zwar vital nennt, die aber immer nach der Entnahme der Organe stattfand. Die von ihm publizierten Photographien, welche als Beleg seiner Theorie dienen, sind qualitativ unzureichend und stimmen nicht mit den Angaben überein (Vergrößerung). Sie sollten nachweisen, daß außer dem Einfluß von CO eine sichtbare und abschätzbare Verschiebung der Farbstoffverteilung von einer überwiegend granulären zur überwiegend diffusen stattfindet. Daraus wurde von ihm der Schluß gezogen, das CO wirke spezifisch - toxisch, diese Behauptung wurde noch durch weitere Untersuchungen der sog. "sorptiven Fähigkeit" (= adsorptive Fähigkeit) gestützt; es handelt sich um die Bestimmung der adsorbierten Farbstoffmenge auf dem Wege der Gewichtsvergleiche und der Extinktionsbestimmungen der Flüssigkeit, in der die gefärbten Organe gelagert wurden. Eine Erhöhung der "sorptiven Fähigkeit" wurde zurückgeführt auf eine Erhöhung der diffusen Farbstoffverteilung (Bindung) im Gewebe

und diese wiederum sollte, als Ausdruck einer Zellschädigung, bei CO-exponierten Tieren verstärkt sein. Wenn auch der Gedankengang nicht ohne eine logische Berechtigung scheint, so sind die Prämissen nicht zulässig: erstens, die CO-Wirkung ist immer zuerst als eine hypoxische zu betrachten, zweitens sind die Umwege, die eine diffuse Farbstoffverteilung belegen sollten, so reich an Fehlermöglichkeiten, daß diese Methodik auch mit Anwendung statistischer Auswertung nicht empfehlenswert erscheint. Außerdem müßte noch bewiesen werden, daß eine diffuse Farbstoffspeicherung tatsächlich eine vergrößerte Farbstoffaufnahme nach sich zieht, und daß eine diffuse Farbstoffverteilung conditio sine qua non der vergrößerten Farbstoffaufnahme ist. Letztens ist diese Beweisführung nach den hier durchgeführten Versuchen nicht wiederholbar, d.h. eine diffuse Färbung ist bei allen Versuchstieren aufgetreten, ohne quantitative Unterschiede. Viel objektiver dagegen scheint die Erforschung der Verhältnisse bei der granulären Färbung zu sein.

3.5.0. Theoretische Überlegungen zur CO-Toxikologie

Im Abschnitt 1.1.3. wurde schon ein kurzer Überblick über die vorherrschenden Meinungen zur Wirkungsweise des CO gegeben. Jetzt wird versucht, eine eigene Stellungnahme zu unterbreiten. Die Versuche mit 10-wöchiger CO-Exposition haben ergeben, daß die Tiere stärkere Schäden am ZNS aufwiesen, als andere, die kurzfristiger, aber stärkeren Konzentrationen

ausgesetzt waren. Der nächstliegende Schluß ist hier, daß eine Kumulation der sehr geringen CO-Intoxikationen stattgefunden hatte. Für einen kapazitativen Vorgang des Organismus gegenüber CO sprechen auch Untersuchungen von MARCHANT und KILLICK, sowie von ZWÖLFER (36).
Eine 200 ppm CO-Konzentration in der Atemluft hat nach bisherigen Kenntnissen keine Hypoxie mit schweren pathalogischen Veränderungen zur Folge. Also müssen wir annehmen, daß diese geringen CO-Konzentrationen , über längere Zeit fortgesetzt, nicht auf dem Umwege der Hypoxie zur Geltung kommen, sondern direkt im Gewebe die Atmung der Zellen stören. Anders kann man sich die schweren Auswirkungen schlecht vorstellen. Zu berücksichtigen bleibt hier noch die Tatsache, daß 200 ppm für kleine Organismen eine schwerere Belastung darstellen, als es aus der menschlichen Pathologie verständlich wäre. Auf eine größere Empfindlichkeit kleiner Organismen gegenüber CO wiesen schon PETRY (44), QUANDT (24), hin. Das ergibt sich auch aus der Publikation von SCHMIDT-NEILSEN und LARIMER (30).

4.0.0. Zusammenfassung

Die vorgelegte Arbeit dient der Erforschung der toxischen Wirkungen des Kohlenmonoxyds. Insbesondere wurde die Frage der Schädigung der Blut-Hirnschranke bei gestuften CO-Expositionen von Albinoratten geprüft. Es wurde eine Methodik zur CO-Exposition unter gleichbleibenden Bedingungen ausgearbeitet. Dann wurde die Darstellungsmöglichkeit der Blut-Hirnschranke untersucht und die Veränderungen der Blut-Hirnschranke mit einem Färbeverfahren in vivo verfolgt. Die Benutzung des Farbstoffs - eines schwach sauren, kolloidalen Tolidindiazoderivates - Geigy-Blau 536 med. (=Evans-Blue) versprach einen Aufschluß zu geben über den Zustand der Blut-Hirnschranke, da er nicht vom Redox-Potential des Gewebes, sondern nur abhängig vom Zustand der Schranke, das Gehirn anfärbt. Nach Quellenangaben vermag der Farbstoff (LEONHARDT, 17) nur Schranken, die schon gering geschädigt sind, zu durchbrechen.

Die Ergebnisse sind in bezug auf die Schranke nicht eindeutig. Eine selektive Anfärbung des Gehirns oder seiner Teile ist nicht erfolgt, obwohl Parenchymschäden nach den CO-Expositionen durch andere Verfahren gesichert wurden. Eine weitere Versuchsreihe mit noch empfindlicheren Methoden (Fluoreszenzmikroskopie, Autoradiographie) wird empfohlen.

Außerdem wurde versucht, eine Literaturangabe über die Supravitalfärbung von Organen nach chronischen CO-Vergiftungen an Mäusen zu verifizieren. Diese von SHTABSKIJ angegebenen Ergebnisse konnten nicht bestätigt werden, seine Arbeit wird einer Kritik unterzogen.

5.0.0. Literaturverzeichnis

1. AHLMARK A., AXELSON B., SWENSSON A.:
Die Wirkung einer langzeitigen täglichen Kohlenoxydeinatmung auf die Narkoseresistenz bei Mäusen.
Intern. Arch. f. Gewerbepath. und Gewerbehygiene 16, 13 - 23 (1957)

2. BARGMANN W.:
Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen.
6. Aufl. 1967

3. BAUER, H.:
Neuere Vorstellungen über Blut-Hirnschranken-Funktion und dessen Bedeutung für die Pathogenese beruflicher Vergiftungen.
Intern. Arch. f. Gewerbepath. und Gewerbehygiene 19, 492-506 (1962)

4. CLAUDE, J.R.:
Recherches analytiques, physiologiques et biochimiques sur la toxicité â long terme de l'oxyd de charbone.
Arch. Malad. Prof. 26, 360 (1965)

5. DALGAARD, J.B.:
Postmortale Befunde bei akuter CO-Vergiftung
Zbl. f. Arbeitsmed. 14, 2 (1964)

6. EFFENBERGER, E.:
Internat. Sympos. CO-Intoxikation
Arbeitsmed. Sozialmed Arbeitshyg. (ASA) Sonderheft 1, (1965)

7. EHRHARDT, W.:
Die wichtigsten beruflichen Vergiftungen.
(im Lehrbuch der Inneren Medizin, Herausgeb. A. Sundermann, Bd. 2, VEB-Fischer Verlag, Jena 1961)

8. GICKLHORN, J.:
Abderhaldens Handbuch der biol. Arbeitsmethoden
V. 2, 1 - e Hälfte, (1928)

9. GEIGY- BLAU 536 med.
Zur Bestimmung der zirkulierenden Blut- und Plasmamenge
Herausgeber: Fa. Geigy AG, Basel

10. HARMS, H.:
Handbuch der Farbstoffe für die Mikroskopie
Staufen-Verlag, Stuttgart, (1959)

11. HOLLEMAN-WIBERG:
Lehrbuch der anorganischen Chemie
57 - 70 1. Aufl. De Gruyter-Verlag, Berlin (1967)

12. LEEL-ÖSSY, L., PAP, Z.:
Mitteilung in Psychiat. Neurol. Basel, 174, 327 (1964)

13. LUND, O.E.:
Histologische Befunde bei experimentellen akuten Kohlenoxydvergiftungen
Arch. f. Gew. Path. u. Gew. Hyg. 15, 1, 96 - 109 (1956)

14. KREUZER, F.:
Arbeitsmed., Sozialmed. und Arbeitshyg. Sonderheft 1, (1965)

15. KORB, G., DAVID, H.:
Untersuchungen am Herzmuskel der Ratte nach Leuchtgasvergiftungen
Deutsche Ztschr. f. gericht. Med. 52, 549 - 557, (1962)

16. LENGGENHAGER, K.:
Neues zur Wirkungsweise der Kohlenoxydvergiftung
im Druck

17. LEONHARDT, H.:
Geigyblau 536 med. - ein neuer Vitalfarbstoff zum Nachweis der Blut-Gehirnschranke
Ztschr. f. Mikrosk. 61, 3, (1952)

18. v. LESSEN, H., SCHÜMMELFEDER, N., BERGEDER, H.D.:
Zur Morphologie und Vitalfärbung röntgenbestrahlter Ascitestumoren
Ztschr. f. Krebsforschung 69, 309 - 315 (1967)

19. MALORNY, G.:
Internat. Sympos. CO-Intoxikation
Arbeitsmed., Sozialmed. u. Arbeitshyg., Sonderheft 1 (1965)

20. v. MÖLLENDORF, W.:
Methoden zum Studium über vitale Färbungen an Tierzellen
Abderhaldens Handbuch der biol. Arbeitsmethoden
V. 2 - e Hälfte (1928) Berlin - Wien (1920 - 1939)

21. MOSINGER, M., DE BISSCHOP, G.:
Recherches sur l'intoxikation subaigue et chronique par l'oxyd de carbone
Urg. Med. et Chir. 1, 1 (1964)

22. PRAVDIN, N.S.:
Beitrag zur Kohlenoxyd-Toxikologie
Übers. aus Svenska Läkartidningen 7, (1953)

23. SPECKMANN, K.:
Über larvierte Spätschäden am Nervensystem nach akuter CO-Vergiftung
Arch. f. Toxikologie 14, 5 (1953)

24. QUANDT, J.:
Die zerebralen Durchblutungsstörungen des Erwachsenenalters.
Ihre Grundlagen und Klinik
F. K. Schattauer-Verlag, Stuttgart (1969)

25. ROMEIS, B.:
Mikroskopische Technik(1948) Leibnitz-Verlag, München

26. ROULET, F.:
Methoden der pathologischen Histologie, (1948) Springer-Verlag, Wien

27. ROSSMANN, H.:
Internat. Sympos. CO-Intoxikation
Arbeitsmed., Sozialmed. u. Arbeitshyg., Sonderheft 1 (1965)

28. SCHMIDT, B.:

Internat. Sympos. CO-Intoxikation

Arbeitsmed., Sozialmed. u. Arbeitshyg., Sonderheft 1 (1965)

29. SCHMIDT, F.H.:

Erfahrungen mit Enzymbestimmungen bei Toxizitätsuntersuchungen

Vol. V, Advances in toxicological Methodology, Bad Homburg, Jan. 1965

reprinted from Excerpta Medica International Congress Series No. 90

30. SCHMIDT-NEILSEN, K., LARIMER, J.L.:

Oxygen Dissotiation Curves of Mammalian Blood in Relation to Body Size

Am. J. of Phys. 195 (1958)

31. SCHULTE, J.H.:

Effects of mild carbonmonoxyd intoxication

Arch. Environmental Health, 7, 5, S. 524 (Nov. 1963)

32. SHABALIN, W.A.:

O charaktere usmenenya usslovnoreflektornych reaktsji ludej pri vosdeestvi okisy ugleroda i vibratsji

("Über den Charakter der Veränderungen bedingtreflektorischer Reaktionen von Menschen bei Einfluß von CO und Vibrationen")

Bjulet. eksperimentalnoj biologii i mediciny 27, 5, S. 45 - 47 (1962)

33. SHTABSKIJ, B.M.:

O primenenii metoda prishisnennoi okraski dla otsenki reaktsi organisma na vosdeesvie okisy ugleroda w eksperimente

Gig. truda i profes. sabolev, 12, (1963)

34. SHTABSKIJ, B.M.:

Isutschenie deistvija okisy ugleroda na kletki myshei metodom prishisnennoi okraski

Tsitologija 6, 3 (1964)

35. STOCKINGER, L.:

Vitalfärbung und Vitalfluorochromierung tierischer Zellen

Protoplasmatologia Bd. II, D1, Springer Verlag, Wien (1964)

36. SYMPOSION DER CO-FORSCHUNG
Arbeitsmed., Sozialmed. u. Arbeitshyg., Sonderheft 1 (1965)

37. VYSKOCIL, J.:
Neurohumorale Regulationen bei der akuten und chronischen Kohlenoxydvergiftung
Arch. f. Gew. Pathol. u. Gew. Hyg. 15, 457 - 472 (1957)

38. WIELAND, H.:
Internat. Sympos. CO-Intoxikation
Arbeitsmed. Sozialmed. und Arbeitshyg., Sonderheft 1 (1965)

39. ZORN, H.:
Die Beziehungen zwischen Kohlenmonoxydkonzentration im Gewebe, Blut und Atemluft in der Folge von Gasvergiftungen
Internat. Kongreß Arbeitsmedizin, Helsinki, 1957

40. ZORN, H.:
Nachweis von Kohlenmonoxyd
Arbeitsmed. Sozialmed. und Arbeitshyg. 12, 433 (1966)

41. MANZ, G.:
Internat. Sympos. CO-Intoxikation
Arbeitsmed. Sozialmed. und Arbeitshyg., Sonderheft 1 (1965)

42. ZORN, O., KRÜGER, P.D., PORTHEINE, F.:
Probleme akuter und chronischer Kohlenoxyd-Vergiftungen
Arch. f. Gew. Pathol. u. Gew. Hyg. 18, 1 - 21 (1960)

43. NAVRATIL, M.:
Vliv kyslicniku uhelnateho na krevni obeh.
Prac. lik. 36, 4, 89 - 90 (1956)

44. PETRY, H.:
Die chronische Kohlenoxydvergiftung
A. Barth-Verlag, Leipzig (1953)

45. FRANCOIS, R. CH., BERTIN:

Statistische Untersuchungen der Stadtgasvergiftungen in Paris von 1949 - 1962 mit besonderer Beachtung des Einflusses des CO-Gehaltes im Stadtgas La pres. medical tome 76, 23 (11.5.1968)

Referiert von H. Zorn im Zbl. f. Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin

46. MÖSCHLIN, S.:

Klinik und Therapie der Vergiftungen

Thieme-Verlag, Stuttgart (1965)

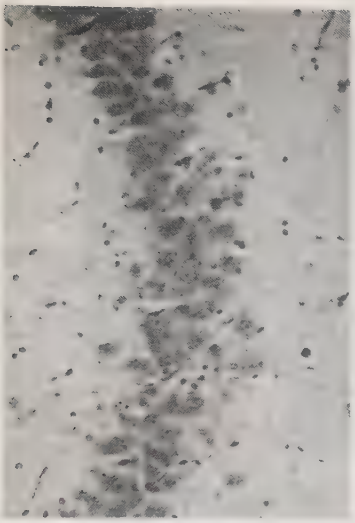


Abb. 9 R 42, HE
Gehirn: Ganglienzellschäden
Vergr. 25 x 12,5

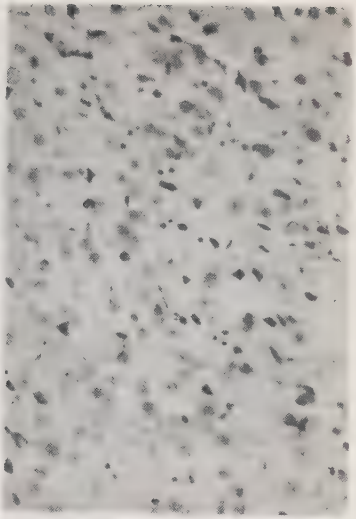


Abb. 10 R 42, Gehirn, HE, Ganglienzellschäden, schweres Ödem
Vergr. 25 x 12,5

Abb. 11 R 43, Gehirn, HE
Zellausfälle
Vergr. 10 x 12,5

Abb. 12 R 41, Gehirn, HE
Lückenfeld, Ammonshorn
Vergr. 10 x 12,5

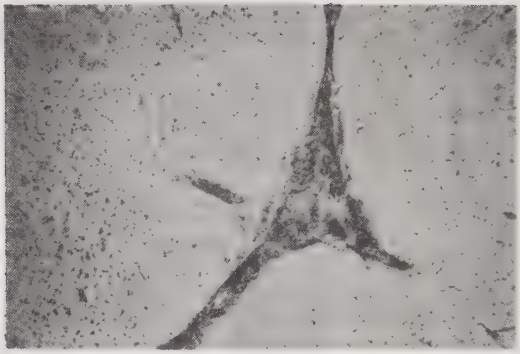


Abb. 7

Tier R 40,

Gehirn subrachnoidale Blutung HE

Vergr. 10 x 12,5

Abb. 8

Tier R 42,

Gehirnrinde mit älteren Ganglienzellausfällen HE

Vergr. 25 x 12,5

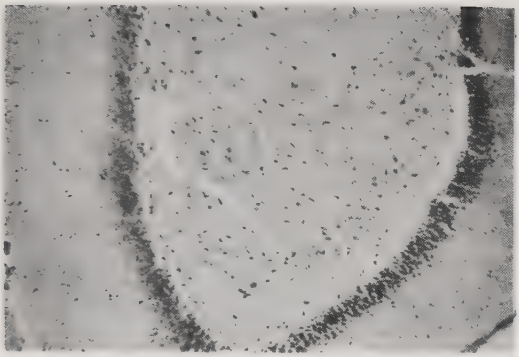


Abb. 13

Tier R 48
Gehirn, "0"-Tier

Vergr. 10 x 12,5

Abb. 14

Tier R 41
Gehirn, Lückenfeld

Vergr. 10 x 12,5

Abb. 15

Tier R 42
Gehirn,
Lückenfeld m. Blutung
perifokales, wabiges
Ödem

Vergr. 10 x 12,5

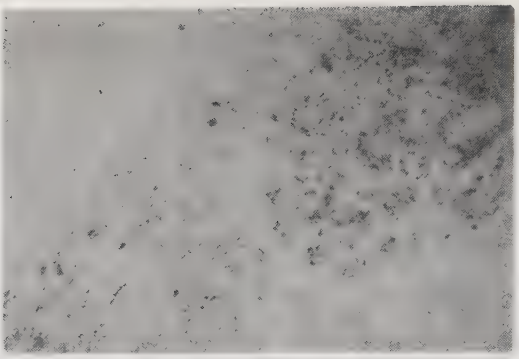


Abb. 16

CO-Gehirn,
Supravitalfärbung,
granuläre Farbstoffspeicherung

Vergr. 25 x 12,5

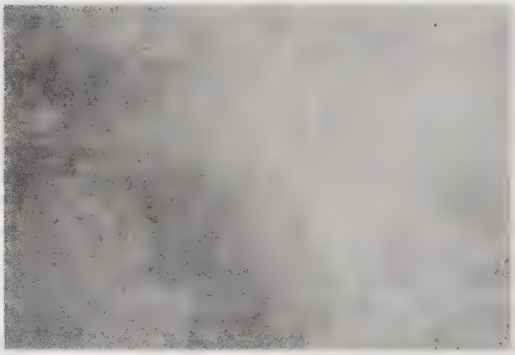


Abb. 17

CO-Gehirn, Neutralrot
diffus supravital

Vergr. 25 x 12,5

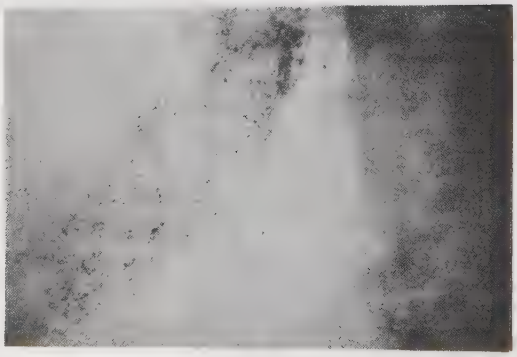


Abb. 18

CO-durchperltes Gehirn,
Supravital Neutralrot
granulär und diffus

Vergr. 25 x 12,5

Abb. 19

Niere – CO – durchperlt
Supravital-Neutralrot

Vergr. 25 x 12,5

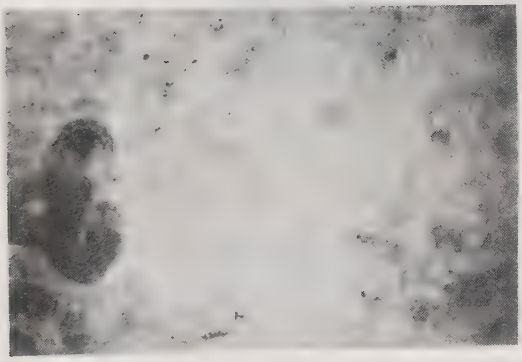


Abb. 20

0 – Tier

Niere, supravital
Neutralrot
diffus und granulär

Vergr. 25 x 12,5

Abb. 21

R 43, Gehirn
Vital-Geigy-Blau

Vergr. 25 x 12,5

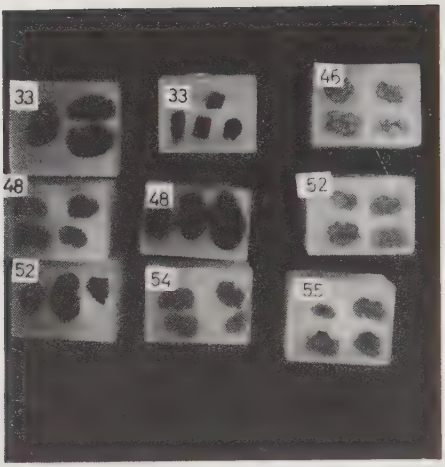


Abb. 23

Paraffinblöcke: Farbunterschiede zwischen Gehirnen verschiedener Tiere und zwischen Gehirn und anderen Organen des selben Tieres.

Die Zahlen auf den Blöcken entsprechen der Bezeichnung der Versuchstiere.

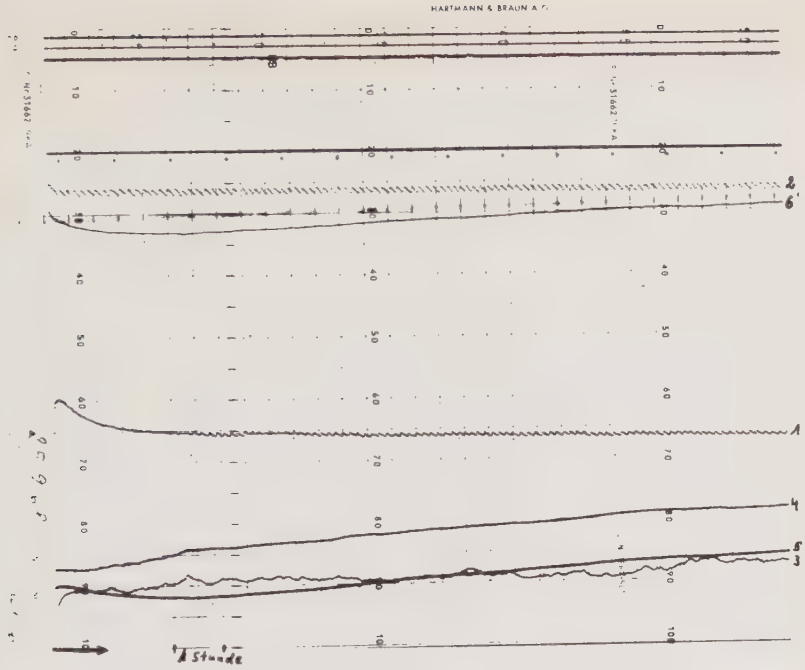


Abb. 24 Polykomb - Registrierstreifen

1. CO-Konzentration im Käfig, Anfangskonzentration 200 ppm
2. O_2-Gehalt der Luft im Käfig, hier konst. 21 Vol. %
3. CO_2-Gehalt der Luft im Käfig, hier max. 1.3 Vol. %
4. Innentemperatur
5. Außentemperatur
6. Luftfeuchtigkeit im Käfig

Lebenslauf

Ich, Antoni Schittek, bin geboren am 24. Februar 1943 in Pogorzela (Pogorschella-Polen). Meine Eltern sind Dr. Eugen Schittek und seine Frau Anna Schittek.

Die Schulausbildung beendete ich erfolgreich mit dem Abitur im Jahre 1960 am J. A. Comenius-Gymnasium zu Leszno (Lissa). Im selben Jahr wurde ich an der Medizinischen Akademie in Warschau zum Medizinstudium zugelassen.

Nach 2 Studienjahren, im Jahre 1962, erhielt ich die Möglichkeit, das Medizinstudium an der Universität Tübingen fortzusetzen, wo ich im Jahre 1964 die Ärztliche Vorprüfung bestanden habe. Das klinische Studium habe ich, mit Ausnahme von 2 Semestern in Hamburg, in Tübingen fortgesetzt und am 20. Februar 1968 in Tübingen mit der Ärztlichen Prüfung abgeschlossen.

Druck: Polyfoto Dr. Vogt KG
Stuttgart 1, Königstraße 19 a
Telefon 291063

Druck: Polyfoto Dr. Vogt KG
Stuttgart 1, Königstraße 19 a
Telefon 291063